



生命科学实验指南系列



Short Protocols in
Human Genetics

精编人类遗传学 实验指南

N. C. 德拉科波利 J. L. 海恩斯 B. R. 科夫
〔美〕 C. C. 莫顿 A. 罗森茨威格 C. E. 塞德曼 编著
J. G. 塞德曼 D. R. 史密斯
夏家辉 主译



科学出版社
www.sciencep.com

生命科学实验指南系列

精编人类遗传学实验指南

Short Protocols in Human Genetics

N. C. 德拉科波利

J. L. 海恩斯

B. R. 科夫

C. C. 莫顿

[美]

A. 罗森茨威格

C. E. 塞德曼

编著

科学出版社

北京

图字:01-2005-3955 号

内 容 简 介

本书包括十三章内容和相关附录,详细介绍了遗传作图、基因分型、体细胞杂交、细胞遗传学、分子克隆、致病或易感基因定位克隆、临床遗传学与临床分子遗传学、肿瘤遗传学、转录组学、基因治疗载体、基因治疗策略等内容,分别介绍了相关的基础知识、科学原理、实验方法等。

本书是一本专门供从事遗传学及相关专业研究及教学的研究人员、研究生、教师等参考的实验书籍。

Short Protocols in Human Genetics

Copyright © 2005 by John Wiley & Sons, Inc.

All Rights Reserved. Authorized translation from the English language edition by John Wiley & Sons, Inc.

图书在版编目(CIP)数据

精编人类遗传学实验指南/(美)德拉科波利(Dracopoli, N. C.)等编著;
夏家辉主译. --北京:科学出版社,2009

(生命科学实验指南系列)

ISBN 978-7-03-022540-5

I. 精… II. ①德…②夏… III. 人类遗传学-实验-指南 IV. Q987-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 106349 号

责任编辑:夏 梁 席 慧/责任校对:钟 洋

责任印制:钱玉芬/封面设计:耕者设计工作室

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2009 年 1 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2009 年 1 月第一次印刷 印张:54 1/2

印数:1-2 500 字数:1 258 000

定价:168.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈双青〉)

译者序

现代人类遗传学的发展极为迅速,加快人类遗传学理论及实验方法的更新能够更大地促进该学科的发展。《精编人类遗传学实验指南》一书详细介绍了基因定位、基因分型、体细胞杂交、细胞遗传学、大片段的克隆和分析、确定基因组 DNA 候选基因、候选基因法寻找突变、临床细胞遗传学、临床分子遗传学、癌基因组学、转录谱、基因治疗载体、基因治疗等人类遗传学相关内容,这些内容构成了现代人类遗传学的精髓。

本书作者 Nicholas C. Dracopoli 等通过丰富、翔实的理论及最新实验技术,以一种新的方式系统介绍了全部现代人类遗传学的理论及实验技术,以及最新的实验室方法,集科学性、系统性、指导性、实用性、方便性、有效性于一体。同时,该书还具有广泛的推广性,适于从事遗传学相关专业研究的研究人员、临床医生,特别是临床遗传专科医生以及各类农、林、医类院校不同层次和不同专业的本科生、研究生使用。希望通过翻译该书并且出版,为中国人类遗传学的发展及科研水平的提高带来质的飞跃。

此外,人类遗传学作为一门发展极为迅速的学科,近年来新的理论和技术层出不穷,如芯片技术、高通量测序技术等,这些新技术极大地促进了人类遗传学乃至生命科学的飞跃。我们相信作者在今后必然会在本书中增加更多的新内容,我们也将再版时将其增补,力求让该书成为一本广大科研工作者喜爱的工具书。

在该书翻译、审校过程中,得到了科学出版社和中南大学医学遗传学国家重点实验室全体师生的鼎力协助,在此表示衷心感谢,更加感谢各位译者在百忙中的辛勤工作,由于时间仓促,译文难免有不妥之处,敬请各位读者、同仁提出宝贵意见,以便再版时加以更正完善。

夏家辉

中国工程院院士

2008 年 11 月于长沙

前言

20 世纪末是分子医学的开始。分离和纯化基因、测定基因的结构和调节、发现具有致病性的基因变异成为研究生物和疾病的有力手段。遗传学分析技术不仅对遗传学家，而且对未经历过专门的遗传学训练的科学家及临床研究者也变得越来越大重要。

《精编人类遗传学实验指南》汇集了 *Current Protocols in Human Genetics* (以下简称 CPHG) 中所发表的各种方法的精简版本。本书一步一步介绍了 CPHG 的一些基本原理方法。CPHG 涉及的范围是很广的，包括遗传学的方法比如遗传连锁分析、基因克隆、细胞遗传学以及诊断学。本书是专门为实验室工作编写的参考书，适用于对 CPHG 比较熟悉的研究生及博士后。同时，本书也提供了足够的信息给有经验的研究人员作为实验指南。如果需要更多的信息，建议读者进一步参考 CPHG。

本书并不可替代人类遗传学的正规教材。许多最近出版的书籍提供了完整的人类遗传学理论和知识，其中既包括经典遗传学方面，也包括了分子遗传学的内容（比如 Thomas D. Gelehrter 等出版的 *Principles of Medical Genetics*、Robert L. Nussbaum 等出版的 *Thompson & Thompson Genetics in Medicine*、Tom Strachen 等出版的 *Human Molecular Genetics*、D. J. J. Weatherall 等出版的 *The New Genetics in Clinical Principles*）。David L. Rimoin 等出版的 *Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics* 则更侧重于临床及医学遗传学。最后需要提到的是 OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man*)，该著作提供了人类遗传学不可替代和缺少的条目，并且包含了最新的基因缺陷及相关疾病的列表和信息，该著作最早由 Victor A. McKusick 和他在 Johns Hopkins 大学和其他地方的同事与合作者们编著并出版，现已被 NCBI (The National Center for Biotechnology Information) 进一步发展到了互联网。

如何使用本实验指南

本书的构成

本手册中的所有主题均按章节顺序排列，而实验方案在每章中自成一小节；每个小节都描述了一种实验技术的一个或多个实验方案，每个实验方案都由实验材料、实验步骤以及参考文献等几部分组成。所有的参考文献可以在本书末的“参考文献”部分找到。本书中所有内容的组织顺序都参照 CPHG 一书，只是每章中各个独立小节的顺序并不严格参照 CPHG，每节的标题均与 CPHG 完全一致，所以同时拥有这两本书的读者如需就某些书中细节部分进一步阅读时，能够很方便地将本书与 CPHG 一书前后参照阅读。

由于许多试剂与实验过程在本书中多次反复出现，各小节间使用了大量前后参照以避免赘述。前后参照避免那些因为包含了如何准备原始材料和数据分析这些辅助过程的描述变得很长很复杂，使实验方案看上去不至于太长。某些描述常规技术的特定章节（例如凝胶电泳）出现在谈及它们被如何应用的其他章节中时也使用了前后参照。某些

常用技术（例如 DNA 定量）见“附录 3”；对于分子生物学和细胞生物学实验要用到的大部分方法，读者可以参考 *Current Protocols in Molecular Biology* 和 *Current Protocols in Cell Biology* 两本书。

实验指南

本书中许多小节都包含了大量实验方案，每个实验方案代表一系列操作步骤。每小节中首先给出了“基本实验方案”，通常是指被推荐的或最广泛使用的实验方法。接下来是“备选实验方案”——当使用不同设备和试剂可以达到相同的结果，或不同的起始材料要求在方法中做相应改变，或最终产物的要求与基本实验方案不同时——使用“备选实验方案”。“支持实验方案”则描述了操作“基本实验方案”或“备选实验方案”时需要添加的额外步骤；把这些步骤从核心步骤中分离是因为它们可能被应用于本书中的其他方面，或者因为它们在时序上与基本步骤分离。

试剂与溶液

实验方案中需要用到的所有试剂均在每个实验过程开始之前的材料清单中一一列出。大部分是常规储存液，其余是一些常用缓冲液和培养基，还有一些是特定实验方法需要使用的特殊溶液。所有溶液的配方见附录 1。需要特别注意的是：某些在不同章节中都出现了的名称相同的溶液（例如裂解液），其配方是不同的。为了避免混淆，除了如 TE 缓冲液这类常见溶液或缓冲液，附录 1 中每个试剂的配方都在其名称旁用括号注明了出自的章节。

设备

特殊设备和用品在每个实验方案的材料清单中一一列出。我们没有试图列出每个实验步骤中需要用到的全部物品，而是选择列出那些在实验室中可能没有准备好的物品、特殊规格的设备或者需要特别处理的物品。

现代人类遗传学与分子遗传学实验室需要用到的每一件标准设备请见列表。这些物品在本书中广泛使用，无需在每个实验方案之前的材料清单中一一列出。

棉签，木质棉棒	小型离心机，Eppendorf 型，最大离心速度 12 000～14 000r/min
高压灭菌器	离心管，1.5ml
封袋机	显微镜，亮视野，非倒置
天平，分析和制备	显微镜玻片，玻璃制，75mm×25mm，加盖玻片
烧杯	研钵与研杵
工作台保护面	杂交炉，干燥，杂交，有微波；
生物危险品处理容器和塑料袋	裁纸刀，大号
生物安全柜，保护研究人员免受生物危害	纸巾
瓶，玻璃和塑料喷嘴	封口膜
煤气灯	巴斯特移液管和球吸管
细胞收集器，用于检测 96 孔微量滴定板中培养物的放射性	pH 计

续表

夹子 CO ₂ 湿度培养箱, 37℃, 5%CO ₂ 计算机, PC 或 Macintosh 操作系统, 以及打印机 玻片染色缸, 玻璃制, 用于 75mm×25mm 玻片 无菌冻存管 (例如丹麦 Nunc 公司) 小试管、比色杯或电击杯, 一次性塑料制品、玻璃以及 石英制品 暗房和显影盆 干燥器和干燥剂 干冰 过滤器, 用于收集和洗涤硝化纤维或滤膜滤器上的沉淀 玻璃瓶 (例如锥型瓶、平底烧瓶) 镊子 分段收集器 制冷器 通风橱 盖革计数器, 辐 (放) 射测量仪 干胶器 抛弃式塑胶和石棉手套 (刻度) 量筒和移液管 恒温加热板, 用于试管和微量离心管 血细胞计数器 冰桶 制冰器 37℃ 保温箱 实验室工作服 无菌层流操作台, 用于无菌组织培养 看 (X) 片灯, 用于观察放射自显影照片 不含棉绒的纸, 例如: Kimwipes 纸巾 液氮 冷冻真空干燥器 磁力搅拌器, 可加热 标记, 包括永久性标记笔	pH 试纸 吸管, 无菌的莫尔吸管、巴斯德吸管 移液器, 可调节式; 量程为 0.5~1.0μl、10~200μl、 200~1000μl; 塑胶包装纸, (例如 Saran Wrap) 针头钳 宝丽莱相机 橡皮头玻璃搅棒 试管架 防辐射罩, 合成树脂或者胶质玻璃的; 放射性墨水 放射性物质垃圾桶, 液体或固体垃圾用 冰箱, 4℃ 环架和环 胶塞 安全眼镜 刀和刀片 闪烁计数器, β 计数和 γ 计数 剪刀 振动筛, 轨道和台子, 室温或 37℃ 分光光度计, 可见光和 UV Speedvac 蒸发器 (Savant 中间件) 磁带, 遮蔽和电工技师的 计时器 托盘, 塑料和玻璃, 各种型号 UV 交联剂 (例如 Stratalinker、Strategene) UV 光源, 长波长和短波长 UV 透明塑料外壳 (例如 Saran Wrap) UV 透照器 真空干燥器 真空炉 水浴, 37℃ 净水设备 X 射线感光胶片式暗盒和增感屏
---	---

产品生产商

在本书中我们推荐了一些化学药品、生化药品和仪器的生产商。其中提到的某些商家在市场上是拥有最佳质量的商家或者是市场上唯一可用的商家, 而另外一些商家是在写作该实验指南的作者的已有经验中仅熟悉的商家。在后一种情况下, 作者会给出推荐作为对实验新手购买时的帮助, 而对于有经验的研究者则推荐他们使用自己熟悉的商家产品进行实验。

参考文献

本书中的每一小节只给出数量有限的最基本参考文献作为背景知识以供参考, 在每

小节的末尾部分列出。全部参考文献则列于本书最后的“参考文献”部分，图表引用的特殊文献也在这部分列出；读者如果想对背景知识的文献和应用方法有更完备的了解，请参考 CPHG 一书的相应章节。

安全性问题

任何操作这些实验的人员都可能遇到以下的危险物品或者具有潜在危险的物品：1) 放射性物质；2) 有毒化学物质、致癌物、致畸物；3) 致病、致感染的生物制剂，包括来自健康人和患者的样品；4) 某些重组 DNA 载体。在本书中只给出少量警示语，使用者必须在有一定实验室操作和临床操作经验的基础上谨慎小心地进行实验；使用者还必须了解使用有害物质的危险，并且完全依照国家和当地控制机构编写的安全操作指南进行操作。

致谢

在 John Wiley & Sons 的 *The Current Protocols* 系列丛书的编辑人员们给予的支持和协助下，这本精编实验指南得以撰写成书。此外，我们也得到了 Ann Boyle, Tom Downey, Amy Fluet, Shonda Leonard, Susan Lieberman, Kathleen Morgan, Allen Ranz, Mary Keith Trawick, Joseph White, 以及 Elizabeth Harkins 的帮助。我们还要特别感谢为该实验指南贡献了在人类遗传学领域的各种实验方案和宝贵经验的广大同仁——包括在我们实验室，以至在全世界的许多学术性实验室和工程实验室的那些为我们的这本指南提供资料的人们。最后，我们要鸣谢我们的同事 Donald Moir 博士，他是 *Current Protocols in Human Genetics* 的编辑，他对 CPHG 编撰的最初设想和后续增补工作为该书和本书奠定了基础，他为我们这本精编实验指南的编撰提供了无可衡量的帮助。

推荐参考读物

- Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Seidman, J. G., Smith, J. A., Struhl, K. (eds) 2004. *Current Protocols in Molecular Biology*. John Wiley&Sons, New York.
- Bonifacino, J. S., Dasso, M., Harford, J. B., Lippincott-Schwartz, J., and Yamada, K. M. (eds) 2004. *Current Protocols in Cell Biology*. John Wiley&Sons, New York.
- Gelehrter, T. D., Collins, F. S., and Ginsberg, D. 1997. *Principles of Medical Genetics*. Lippincott, 2nd ed. Williams&Wikins, Baltimore.
- Nussbaum, R. L., McInnes, R. R., and Willard, H. F. 2004. *Genetics in Medicine*, 6th ed. W. B. Saunders, Philadelphia.
- OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>
- Rimoin, D. L., Connor, J. M., Pyeritz, R. E., Korf, B. R., and Emery, A. E. H. (eds.) 2001. *Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics*, 4th

-
- end. Churchill Livingstone, New York.
- Strachen, T. and Read, A. P. 2004. Human Molecular Genetics, 3rd ed. Garland Science, New York.
- Weatherall, D. J. J. 1992. The New Genetics and Clinical Practice, 2nd ed. Oxford University Press, Oxford.

Nicholas C. Dracopoli
Jonathan L. Haines
Bruce R. Korf
Cynthia C. Morton
Anthony Rosenzweig
Christine E. Seidman
J. G. Seidman
Douglas R. Smith

编写人员

David Adler
University of Washington
Seattle, Washington

Ellen C. Akeson
The Jackson Library
Bar Harbor, Maine

Levent M. Akyurek
National Heart, Lung, and Blood
Institute, NIH
Bethesda, Maryland

Lisa M. Albright
Allison Park, Pennsylvania

Becky Alhadeff
New York Blood Center
New York, New York

Christopher I. Amos
University of Texas
M.D. Anderson Cancer Center
Houston, Texas

Wendy Ankener
University of Washington School
of Medicine
Seattle, Washington

Michael Arad
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Norman Arnheim
University of Southern California
Los Angeles, California

Arleen D. Auerbach
Rockefeller University
New York, New York

Charles D. Bangs
Stanford University Hospital
Stanford, California

Marie A. Barr
Jefferson Medical College
Philadelphia, Pennsylvania

Scott Barr
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Andreas D. Baxevanis
National Human Genome Research
Institute, NIH
Bethesda, Maryland

Stephen B. Baylin
Johns Hopkins Oncology Center
Baltimore, Maryland

Laurie Becker
Case Western Reserve University
and University Hospitals
Cleveland, Ohio

Alan H. Beggs
Children's Hospital and Harvard
Medical School
Boston, Massachusetts

Helen M. Blau
Stanford University School of
Medicine
Stanford, California

Mark S. Boguski
National Center for Biotechnology
Information, NIH
Bethesda, Maryland

Richard Bolin
Nexagen
Boulder, Colorado

Anne-Lise Borresen
The Norwegian Radium Hospital
Oslo, Norway

Andrew Braun
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Garrett M. Brodeur
Children's Hospital of Philadelphia
Philadelphia, Pennsylvania

Terry Brown
University of Manchester Institute
of Science and Technology
Manchester, United Kingdom

W. Ted Brown
Institute of Basic Research in
Developmental Disabilities
Staten Island, New York

Michael C. Byrne
Genetics Institute
Cambridge, Massachusetts

Deborah E. Cabin
Johns Hopkins University School
of Medicine
Baltimore, Maryland

Samuel S. Chong
Georgetown University Medical
Center
Washington, D.C.

Michael Christiansen
Andersen Statens Serum Institut
Copenhagen, Denmark

Deanna Church
National Center for Biotechnology
Information, NIH
Bethesda, Maryland

Chris D. Clark
Stanford University School of
Medicine
Stanford, California

Richard G.H. Cotton
Mutation Research Centre
Fitzroy, Australia

Sandra L. Dabora
Brigham and Women's Hospital
Boston, Massachusetts

Paola Dal Cin
Brigham and Women's Hospital
Boston, Massachusetts

Muriel T. Davisson
The Jackson Library
Bar Harbor, Maine

Pieter J. de Jong
Roswell Park Cancer Institute
Buffalo, New York

Claire Delahunty
University of Washington School
of Medicine
Seattle, Washington

- | | | |
|--|---|---|
| Daniel B. Demers
Fairfax Identity Laboratories
Fairfax, Virginia | Edward A. Fox
Brigham and Women's Hospital
Boston, Massachusetts | Joe W. Gray
University of California at San Francisco
San Francisco, California |
| Johan T. den Dunnen
Leiden University
Leiden, The Netherlands | Cornel Fraefel
Institute of Virology
University of Zurich
Zurich, Switzerland | Anoop Grewal
Silicon Genetics
Redwood City, California |
| Sandy DeVries
University of California at San Francisco
San Francisco, California | Eirik Frengen
The Biotechnology Centre of Oslo
University of Oslo
Oslo, Norway | Michelle Gschwend
Whitehead Institute for Genome Research
Cambridge, Massachusetts |
| Christine M. Distèche
University of Washington School of Medicine
Seattle, Washington | Sean R. Gallagher
Motorola
Tempe, Arizona | Rebecca A. Haberman
University of North Carolina
Chapel Hill, North Carolina |
| Carl Dobkin
Institute for Basic Research in Developmental Disabilities
Staten Island, New York | Robert M. Gemmill
Institute for Cancer Research
Denver, Colorado | Jeff Hall
Sequana Therapeutics
La Jolla, California |
| Norman A. Doggett
Los Alamos National Laboratory
Los Alamos, New Mexico | James German
New York Blood Center
New York, New York | Barbara Handelin
Integrated Genetics
Framingham, Massachusetts |
| Timothy A. Donlon
Kapiolani Medical Center
Honolulu, Hawaii | Michelle Geschwend
Stanford University School of Medicine
Stanford, California | Elizabeth R. Hauser
Duke University Medical Center
Durham, North Carolina |
| Dongsheng Duan
University of Iowa
Iowa City, Iowa | Longina M. Gibas
Jefferson Medical College
Philadelphia, Pennsylvania | Tong-Chuan He
The University of Chicago Medical Center
Chicago, Illinois |
| John F. Engelhardt
University of Iowa
Iowa City, Iowa | John Gilbert
Duke University Medical Center
Durham, North Carolina | Ruth A. Heim
Genzyme Genetics
Westborough, Massachusetts |
| Warren J. Ewens
University of Pennsylvania
Philadelphia, Pennsylvania | James M. Giron
Children's Research Institute
Washington, D.C. | Henry H.Q. Heng
University of Toronto and The Hospital for Sick Children
Toronto, Ontario |
| Lindsay Farrer
Boston University and Harvard Medical School
Boston, Massachusetts | Joseph C. Glorioso
University of Pittsburgh School of Medicine
Pittsburgh, Pennsylvania | James G. Herman
The Johns Hopkins Oncology Center
Baltimore, Maryland |
| David J. Fink
University of Pittsburgh School of Medicine and VA Medical Center
Pittsburgh, Pennsylvania | William F. Goins
University of Pittsburgh School of Medicine
Pittsburgh, Pennsylvania | Eric P. Hoffman
Children's Research Institute
Washington, D.C. |
| Maximillian T. Foulletie
Genetics Institute
Cambridge, Massachusetts | Robert E. Gore-Langton
Georgetown University Medical Center
Washington, D.C. | Ouranía Horaitis
Mutation Research Center
Fitzroy, Australia |
| | | Eivind Hovig
The Norwegian Radium Hospital
Oslo, Norway |

- | | | |
|--|--|--|
| Leaf Huang
University of Pittsburgh
Pittsburgh, Pennsylvania | Norman Kaplan
National Institute of Environmental
Health Sciences
Research Triangle Park, North
Carolina | Peter Lambert
Silicon Genetics
Redwood City, California |
| Rene Hubert
University of Southern California
Los Angeles, California | Charles M. Kelly
Fairfax Identity Laboratories
Fairfax, Virginia | Lars Allan Larsen
Andersen Statens Serum Institut
Copenhagen, Denmark |
| Thomas J. Hudson
Whitehead Institute
Cambridge, Massachusetts | Jae Bum Kim
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts | Charles Lee
Brigham and Women's Hospital
and Harvard Medical School
Boston, Massachusetts |
| Mark R. Hughes
Georgetown University Medical
Center
Washington, D.C. | Joan H.M. Knoll
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts | Esther P. Leeftang
University of Southern California
Los Angeles, California |
| Bradley T. Hyman
Harvard Medical School/
Massachusetts General Hospital
Charlestown, Massachusetts | Sakari Knuutila
University of Helsinki
Helsinki, Finland | Song Li
University of Pittsburgh
Pittsburgh, Pennsylvania |
| Martin Ingelsson
Harvard Medical School/
Massachusetts General Hospital
Charlestown, Massachusetts | Donald B. Kohn
Children's Hospital of Los Angeles
Los Angeles, California | Peter Lichter
Deutsches
Krebsforschungszentrum
Heidelberg, Germany |
| Panayiotis A. Ioannou
The Murdoch Institute for
Research into Birth Defects
Royal Children's Hospital
Melbourne, Australia | Robert G. Korneluk
Children's Hospital of Eastern
Ontario
Ottawa, Canada | Sigbjorn Lien
Agricultural University of Norway
Aas, Norway |
| Michael C. Irizarry
Harvard Medical School/
Massachusetts General Hospital
Charlestown, Massachusetts | Karen Kozarsky
SmithKline Beecham
Pharmaceuticals
King of Prussia, Pennsylvania | Stephen Little
Cellmark Diagnostics
Cheshire, United Kingdom |
| Cynthia L. Jackson
Rhode Island Hospital & Brown
University
Providence, Rhode Island | David Krisky
University of Pittsburgh School of
Medicine
Pittsburgh, Pennsylvania | Janina Longtine
Brigham and Women's Hospital
Boston, Massachusetts |
| Laird Jackson
Jefferson Medical College
Philadelphia, Pennsylvania | Gabriele Kroner-Lux
University of North Carolina
Chapel Hill, North Carolina | Karol Mackey
Molecular Research
Cincinnati, Ohio |
| John Jarcho
Brigham and Women's Hospital
and Harvard Medical School
Boston, Massachusetts | Pui-Yan Kwok
Washington University
St. Louis, Missouri | Thomas L. Madden
National Center for Biotechnology
Information, NIH
Bethesda, Maryland |
| Erica Justice-Higgins
Massachusetts General Hospital
Charlestown, Massachusetts | Sam LaBrie
Genome Systems Inc.
St. Louis, Missouri | Mani Mahadevan
Children's Hospital of Eastern
Ontario
Ottawa, Canada |
| | Bruce Lamb
Johns Hopkins University School
of Medicine
Baltimore, Maryland | Peggy Marconi
University of Pittsburgh School of
Medicine
Pittsburgh, Pennsylvania |
| | | Eden R. Martin
Duke University Medical Center
Durham, North Carolina |

- | | | |
|--|--|--|
| Hajime Matsukaki
Affymetrix
Santa Clara, California | Deborah A. Nickerson
University of Washington School
of Medicine
Seattle, Washington | Thomas A. Rando
Stanford University School of
Medicine
Stanford, California |
| Linda McAllister
Affymetrix
Santa Clara, California | Sarah L. Nolin
Institute for Basic Research in
Developmental Disabilities
Staten Island, New York | Rino Rappuoli
Chiron Corporation
Emeryville, California |
| John McPherson
Washington University School of
Medicine
St. Louis, Missouri | Jan A. Nolte
Children's Hospital of Los Angeles
Los Angeles, California | Roger H. Reeves
Johns Hopkins University School
of Medicine
Baltimore, Maryland |
| Mark A. Micale
Case Western Reserve University
and University Hospitals
Cleveland, Ohio | Nassim Nouri
Affymetrix
Santa Clara, California | Willem Rens
University of Cambridge
Cambridge, United Kingdom |
| A. Dusty Miller
Fred Hutchinson Cancer Research
Center
Seattle, Washington | Kazutoyo Osoegawa
Roswell Park Cancer Institute
Buffalo, New York | Carol Reynolds
Brigham and Women's Hospital
Boston, Massachusetts |
| Patricia Minehart Miron
Harvard Medical School and
Brigham and Women's Hospital
Boston, Massachusetts | B.F. Francis Ouellette
Centre for Molecular Medicine and
Therapeutics
University of British Columbia
Vancouver, Canada | Elizabeth M. Rohlf
Genzyme Genetics
Westborough, Massachusetts |
| Jason H. Moore
Vanderbilt University Medical
School
Nashville, Tennessee | Irma Parra
Cancer Therapy and Research
Center
San Antonio, Texas | Mark T. Ross
The Sanger Centre
Cambridge, United Kingdom |
| Juliane Murphy
National Human Genome Research
Institute, NIH
Bethesda, Maryland | Nila Patil
Affymetrix
Santa Clara, California | Thomas Ryder
Affymetrix
Santa Clara, California |
| Elizabeth G. Nabel
National Heart, Lung, and Blood
Institute, NIH
Bethesda, Maryland | Mary C. Phelan
Thompson Children's Hospital
Chattanooga, Tennessee | Richard Jude Samulski
University of North Carolina
Chapel Hill, North Carolina |
| Gary J. Nabel
University of Michigan Medical
Center
Ann Arbor, Michigan | Daniel Pinkel
University of California at San
Francisco
San Francisco, California | Hong San
National Heart, Lung, and Blood
Institute, NIH
Bethesda, Maryland |
| Elizabeth Nanthakumar
Sequana Therapeutics
La Jolla, California | Kim D. Pruitt
National Center for Biotechnology
Information, NIH
Bethesda, Maryland | Karin Schmitt
University of Southern California
Los Angeles, California |
| Nichole M. Napolitano
Genzyme Genetics
Westborough, Massachusetts | Ramesh Ramakrishnan
Virusys Corporation
North Berwick, Maine | Deborah E. Schofield
Children's Hospital and Harvard
Medical School
Boston, Massachusetts |
| | Koustubh Ranade
Bristol-Myers Squibb
Princeton, New Jersey | Rhona R. Schreck
Cedars-Sinai Medical Center
Los Angeles, California |

Stuart Schwartz
Case Western Reserve University
and University Hospitals
Cleveland, Ohio

Val Sheffield
University of Iowa
Iowa City, Iowa

Yongah Shin
Harvard Medical School/
Massachusetts General Hospital
Charlestown, Massachusetts

John M. Shoffner
Scottish-Rite Children's Medical
Center
Atlanta, Georgia

Anthony P. Shuber
Integrated Genetics
Framingham, Massachusetts

Jeffrey Sklar
Brigham and Women's Hospital
Boston, Massachusetts

Paal Skytt
Andersen Statens Serum Institut
Copenhagen, Denmark

Barton E. Slatko
New England Biolabs
Beverly, Massachusetts

Birgitte Smith-Sorensen
The Norwegian Radium Hospital
Oslo, Norway

Amanda C. Sozer
Fairfax Identity Laboratories
Fairfax, Virginia

Marcy C. Speer
Duke University Medical Center
Durham, North Carolina

Richard S. Spielman
University of Pennsylvania
Philadelphia, Pennsylvania

Matthew L. Springer
Stanford University School of
Medicine
Stanford, California

Jordan Stockton
Silicon Genetics
Redwood City, California

William M. Strauss
Beth Israel Hospital/Harvard
Medical School
Boston, Massachusetts

Kevin Struhl
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Damir Sudar
Lawrence Berkeley National
Laboratory
Berkeley, California

Linda C. Surh
Children's Hospital of Eastern
Ontario
Ottawa, Canada

Stanley Tabor
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Ludwig Thierfelder
Max-Delbrück-Centrum für
Molekulare Medizin
Berlin, Germany

Melissa M. Thouin
Children's Research Institute
Washington, D.C.

Jeff P. Tomkins
Clemson University Genomics
Institute
Clemson, South Carolina

Didier Trono
University of Geneva
Geneva, Switzerland

Lap-Chee Tsui
University of Toronto and The
Hospital for Sick Children
Toronto, Ontario

Jeffrey B. Ulmer
Chiron Corporation
Emeryville, California

Jeffrey Vance
Duke University Medical Center
Durham, North Carolina

Rolf Vossen
Leiden University Medical Center
Leiden, The Netherlands

Jens Vuust
Andersen Statens Serum Institut
Copenhagen, Denmark

Frederic M. Waldman
University of California at San
Francisco
San Francisco, California

Douglas C. Wallace
Emory University School of
Medicine
Atlanta, Georgia

Dorothy Warburton
Columbia University
New York, New York

William Warren
Institute for Cancer Research
Surrey, United Kingdom

Jonathan C. Wasson
Washington University School of
Medicine
St. Louis, Missouri

Hugh C. Watkins
University of Oxford
Oxford, United Kingdom

Daniel E. Weeks
University of Pittsburgh
Pittsburgh, Pennsylvania

Jane M. Weisemann
National Center for Biotechnology
Information, NIH
Bethesda, Maryland

Maryann Z. Whitley
Genetics Institute
Cambridge, Massachusetts

Mark Whitmore
University of Pittsburgh
Pittsburgh, Pennsylvania

Bradford Windle
The Cancer Therapy and Research
Center
San Antonio, Texas

Rod A. Wing
Clemson University Genomics
Institute
Clemson, South Carolina

Darren Wolfe
University of Pittsburgh School of
Medicine
Pittsburgh, Pennsylvania

Tyra G. Wolfsberg
National Center for Biotechnology
Information, NIH
Bethesda, Maryland

Fengtang Yang
University of Cambridge
Cambridge, United Kingdom

Jiing-Kuan Yee
City of Hope National Medical
Center
Duarte, California

Lin Zhang
University of Southern California
Los Angeles, California

Yulong Zhang
University of Iowa
Iowa City, Iowa

Romain Zufferey
University of Geneva
Geneva, Switzerland

目 录

译者名单

译者序

前言

编写人员

第 1 章 基因定位	1
单元 1.1 连锁研究所需临床和流行病学资料的收集	3
单元 1.2 家系选择和信息含量	11
单元 1.3 单精子分型	17
单元 1.4 采用 LINKAGE 软件包进行连锁分析	25
单元 1.5 非模式依赖的遗传连锁检验	50
单元 1.6 利用 DNA 池技术进行纯合子定位	65
单元 1.7 疾病关联和基于家系的检验	69
单元 1.8 基因-基因相互作用的分析	81
第 2 章 基因分型	88
单元 2.1 基于 PCR 的基因分型方法	88
单元 2.2 基于连接分析的分型方法	99
单元 2.3 自动荧光的分型方法	103
单元 2.4 用微阵列的方法分型单核苷酸多态	109
单元 2.5 使用 TAQMAN 分析法的高通量基因分型	119
单元 2.6 使用引物延伸荧光偏振探测法的高通量基因分型	121
第 3 章 体细胞杂交简介	127
单元 3.1 体细胞杂交的构建	127
第 4 章 细胞遗传学	139
单元 4.1 经培养外周血细胞的染色体制备	140
单元 4.2 小鼠细胞染色体制备及核型分析	144
单元 4.3 染色体显带技术	151
单元 4.4 中期染色体和间期核的原位杂交	159
单元 4.5 高分辨率 FISH 分析	167
单元 4.6 多色荧光原位杂交(FISH)方法分析人类完全基因组	176
单元 4.7 应用形态学抗体染色体技术确定细胞的表型与基因型	181
单元 4.8 比较基因组杂交	196
第 5 章 大片段的克隆和分析	202
单元 5.1 大范围限制性图谱:脉冲电场电泳	203
单元 5.2 用杂交的方法筛选大片段插入的文库	209

单元 5.3	胚胎将大片段插入 DNA 导入哺乳动物细胞和胚胎	219
单元 5.4	BAC/PAC 文库的构建	232
第 6 章	确定基因组 DNA 候选基因	246
单元 6.1	基因鉴定:方法和注意事项	246
单元 6.2	序列数据库:整体信息的检索和数据的提交	257
单元 6.3	使用 BLAST 程序家族查找序列相似性	265
单元 6.4	人类基因组的获取	280
单元 6.5	使用 Entrez 来检索 NCBI 数据库	303
第 7 章	搜寻候选基因突变的方法	316
单元 7.1	患病个体的序列扩增	317
单元 7.2	通过单链构象多态性分析检测基因突变	321
单元 7.3	毛细管电泳法分析单链构象多态性	323
单元 7.4	应用基于荧光的自动化测序进行杂合体检测	328
单元 7.5	用循环测序法检测突变	333
单元 7.6	人类突变数据库	337
第 8 章	临床细胞遗传学	345
单元 8.1	绒毛标本分裂中期染色体涂片制备	346
单元 8.2	羊水标本的制备、培养和分析	349
单元 8.3	用于染色体分析的妊娠产物及其他固体组织来源样本的培养及制备	357
单元 8.4	姐妹染色单体互换(SCE)分析	361
单元 8.5	利用石蜡包埋组织鉴定染色体非整倍体	365
单元 8.6	羊水细胞用于间期核 FISH 分析的制备方法	369
单元 8.7	范可尼贫血(先天性骨髓发育不全)的诊断——二氧桥丁烷(双环氧丁烷)检测	374
第 9 章	临床分子遗传学	380
单元 9.1	运用多重 PCR 检测营养不良基因缺失	381
单元 9.2	利用等位基因特异性寡聚核苷酸(Allelespecific oligonucleotide, ASO)同时检测多点突变	391
单元 9.3	脆性 X 综合征的分子分析	394
单元 9.4	肌强直性肌营养不良(myotonic dystrophin, DM)的三核苷酸重复的分析	399
单元 9.5	非随机 X 染色体失活的检测	404
单元 9.6	父子关系的分子分析	406
单元 9.7	点突变不易扩增突变系统(简称 ARMS)分析	415
单元 9.8	线粒体 DNA 突变缺失氧化磷酸化疾病的分子分析	421
单元 9.9	单细胞 DNA 和 FISH 分析应用于植入前基因诊断	434
单元 9.10	蛋白质截短试验	447
单元 9.11	载脂蛋白 E(apolipoprotein E, APOE)基因型分析:不同方法间比较	