



国外优秀生命科学教材译丛

# 基因克隆和 DNA 分析

第 7 版 · 中文版

[英] T. A. Brown 著

魏群 等译

## Gene Cloning & DNA Analysis

An Introduction

高等教育出版社



国外优秀生命科学教材译丛

# 基因克隆和 DNA 分析

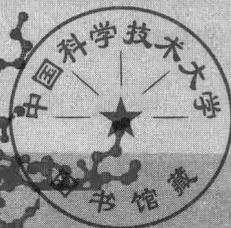
第 7 版 · 中文版

[英] T. A. Brown 著

魏群 刘媛媛 黄弢 姚斯研 李欣 胡丽娅 毕波 林伟林 译

## Gene Cloning & DNA Analysis

An Introduction



高等教育出版社·北京

图字:01-2017-0981号

Gene Cloning and DNA Analysis: An Introduction, Seventh Edition/by T. A. Brown

Copyright ©2016 by John Wiley & Sons, Ltd

All Rights Reserved. Authorised translation from the English language edition published by John Wiley & Sons Limited. Responsibility for the accuracy of the translation rests solely with Higher Education Press Limited Company and is not the responsibility of John Wiley & Sons Limited. No part of this book may be reproduced in any form without the written permission of the original copyright holder, John Wiley & Sons Limited.

### 内容提要

本书详细阐述了基因克隆、基因表达、PCR、DNA 测序、基因组学等分子生物学技术及其原理,系统介绍了基因克隆和 DNA 分析在基础研究、医学、农学、法医学、考古学等领域中的实际应用。在第 7 版中对基因测序、生物制药、基因治疗、DNA 指纹图谱、后基因组等方面作了很多新的拓展。全书深入浅出,逻辑清晰,资料翔实,结构严谨。

本书适合作为高等院校生命科学类专业及农林、医药类相关专业的教学参考用书,也可供相关研究人员、企业人员、中学生物教师和有兴趣了解当代生命科学的人士阅读。

### 图书在版编目(CIP)数据

基因克隆和 DNA 分析:第 7 版:中文版/(英)布朗(T. A. Brown)原著;魏群等译.--3 版.--北京:高等教育出版社,2018.5

(国外优秀生命科学教材译丛)

ISBN 978-7-04-048914-9

I. ①基… II. ①布… ②魏… III. ①基因克隆-高等学校-教材②脱氧核糖核酸-高等学校-教材 IV. ① Q785 ② Q523

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2018)第 069533 号

### Jiyin Kelong he DNA Fenxi

策划编辑 高新景  
责任印制 韩刚

责任编辑 高新景

特约编辑 张磊

封面设计 王洋

出版发行 高等教育出版社  
社址 北京市西城区德外大街4号  
邮政编码 100120  
印刷 唐山市润丰印务有限公司  
开本 850mm×1168mm 1/16  
印张 19.75  
字数 520千字  
购书热线 010-58581118  
咨询电话 400-810-0598

网 址 <http://www.hep.edu.cn>  
<http://www.hep.com.cn>  
网上订购 <http://www.hepmall.com.cn>  
<http://www.hepmall.com>  
<http://www.hepmall.cn>  
版 次 2003年8月第1版  
2018年5月第3版  
印 次 2018年5月第1次印刷  
定 价 52.00元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换

版权所有 侵权必究

物料号 48914-00

数字课程 (基础版)

# 基因克隆和 DNA分析

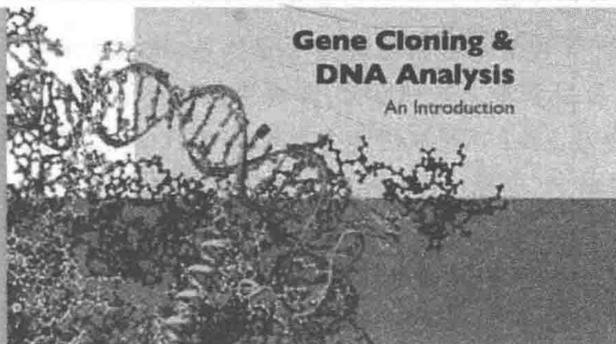
(第7版·中文版)

魏群 等译

## 登录方法:

1. 电脑访问 <http://abook.hep.com.cn/48914>, 或手机扫描下方二维码、下载并安装 Abook 应用。
2. 注册并登录, 进入“我的课程”。
3. 输入封底数字课程账号 (20 位密码, 刮开涂层可见), 或通过 Abook 应用扫描封底数字课程账号二维码, 完成课程绑定。
4. 点击“进入学习”, 开始本数字课程的学习。

课程绑定后一年为数字课程使用有效期。如有使用问题, 请发邮件至:  
[lifescience@pub.hep.cn](mailto:lifescience@pub.hep.cn)



## 基因克隆和DNA分析 (第7版·中文版)

“基因克隆和DNA分析”数字课程与纸质教材紧密配合。数字课程包括英文原版彩图、表格等内容, 充分运用多种形式的媒体资源, 为师生提供教学参考。

用户名:

密码:

验证码:

5360

[忘记密码?](#)

[登录](#)

[注册](#)

<http://abook.hep.com.cn/48914>

扫描二维码, 下载Abook应用



# 第7版译者序

分子生物学的飞速发展不仅渗透和影响着重生命科学的各个分支,也全面推动着重生命科学的纵深发展。分子生物学的基础“基因”“克隆”“DNA”已不再是生命科学领域专家和学生的专用词汇,它们已融入当今的社会,成为人类认识生命现象、探索生命活动本质的代名词。

30年前本书的第一个版本《基因克隆》是英国曼切斯特理工大学分子生物学系 T. A. Brown 教授为本科生讲授并在生物科学领域中广为流传的一本入门读物。十多年前我们翻译的《基因克隆和 DNA 分析》第4版及后来翻译的第5版一直深受生命科学各领域人士,甚至非生命科学领域广大读者的喜爱。

本书分为三个部分。第一部分阐述了基因克隆和 DNA 分析的基本原理。第二部分阐述了基因克隆和 DNA 分析在研究中的应用。第三部分阐述了基因克隆和 DNA 分析在生物技术中的应用。全书深入浅出,虽然分子生物学内容日新月异,但本书仍是为初学者服务。全书内容贯通,许多重点概念和例子全文反复强调,前后呼应。读者在没有太多分子生物学基础知识的情况下,也能够理解这些内容。书中还生动介绍了基因克隆和 DNA 分析在基础研究、医学、农学、法医学等领域中的实际应用。第7版更是对大家所关心的 DNA 测序、生物制药、基因治疗、DNA 指纹图谱、后基因组、考古等方面作了很多拓展。

本书适合作为高等院校生命科学类专业及农林、医药类相关专业教学参考用书,也可供生命科学有关研究人员、企业人员、中学生物教师和有兴趣了解当代生命科学人士阅读。

译者

2017年8月

于北京师范大学

## 第 7 版前言

所有从事 DNA 研究的人都清楚地知道过去几年在 DNA 测序领域发生的重大变化。为了反映这些发展变化,在《基因克隆和 DNA 分析》的新版本中,我对 DNA 测序这一章节的介绍部分进行了完善,对新一代测序法与传统的 DNA 测序法予以同等的关注,并且修缮了对基因序列合成方法的描述。另外,我强调了 RNA 序列在转录组学以及结合位点分析法(ChIP-seq)在定位蛋白质结合位点研究中的重要性。这些修改更正了第 6 版的主要漏洞,而第 6 版是新测序法在投入应用前刚刚完成的。

此外,我还做了一些更新,特别是在第三部分,我尝试去紧跟基因克隆和 DNA 分析在工业、医药和农业应用中飞速发展的步伐。我还重写了最后一章的最后一部分——考古遗传学,旨在介绍一些由尼安德特人(Neanderthal)和丹尼索瓦人(Denisovan)基因组序列所揭示的关于过去人类的新信息。一如既往,我的本意是在假定读者对于研究基因和基因组的科学技术没有任何认知的初学阶段,确保本书依然是一本入门教科书。

再一次感谢我的妻子 Keri 对我的不懈支持,这使得我下决心用尽晚上和周末时间写这本书和其他书籍。

T. A. Brown

于曼彻斯特大学

# 目 录

<b>第一部分 基因克隆和 DNA 分析的基本原理</b> .....	1
<b>第 1 章 为什么说基因克隆与 DNA 分析非常重要</b> .....	2
1.1 遗传学的早期发展 .....	2
1.2 基因克隆和聚合酶链反应(PCR)的出现 .....	2
1.3 什么是基因克隆 .....	3
1.4 什么是 PCR .....	3
1.5 为什么基因克隆和 PCR 如此重要 .....	6
1.6 如何使用这本书 .....	9
推荐阅读材料 .....	9
<b>第 2 章 基因克隆的载体——质粒和噬菌体</b> .....	11
2.1 质粒 .....	11
2.2 噬菌体 .....	15
推荐阅读材料 .....	22
<b>第 3 章 从活细胞中纯化 DNA</b> .....	23
3.1 全细胞 DNA 的制备 .....	23
3.2 质粒 DNA 的制备 .....	32
3.3 噬菌体 DNA 的制备 .....	38
推荐阅读材料 .....	43
<b>第 4 章 DNA 纯化后的利用</b> .....	44
4.1 DNA 操作酶的范围 .....	44
4.2 切割 DNA 的酶——限制性内切酶 .....	49
4.3 连接——将 DNA 分子连接到一起 .....	61
推荐阅读材料 .....	70
<b>第 5 章 将 DNA 引入活细胞</b> .....	72
5.1 转化——使细菌细胞获取 DNA .....	74
5.2 重组体的鉴定 .....	76
5.3 将噬菌体 DNA 引入细菌细胞 .....	80
5.4 重组噬菌体的鉴别 .....	84
5.5 将 DNA 引入非细菌细胞 .....	84
推荐阅读材料 .....	87

第 6 章	大肠杆菌的克隆载体	89
6.1	基于大肠杆菌质粒的克隆载体	89
6.2	基于 $\lambda$ 噬菌体的克隆载体	94
6.3	用于合成单链 DNA 的克隆载体	101
6.4	其他细菌的克隆载体	103
	推荐阅读材料	104
第 7 章	真核生物的克隆载体	105
7.1	酵母和其他真菌的载体	105
7.2	高等植物的克隆载体	111
7.3	动物的克隆载体	120
	推荐阅读材料	124
第 8 章	怎样获得特定基因的克隆	125
8.1	筛选的难题	125
8.2	直接筛选目的基因	127
8.3	从基因文库中鉴定克隆	129
8.4	鉴定克隆的方法	131
	推荐阅读材料	144
第 9 章	聚合酶链反应(PCR)	145
9.1	PCR 简介	145
9.2	PCR 的更多细节	147
9.3	PCR 之后的工作——研究 PCR 产物	151
9.4	实时定量 PCR 可对起始原料的数量进行量化	155
	推荐阅读材料	158
<b>第二部分</b>	<b>基因克隆和 DNA 分析在研究中的应用</b>	<b>159</b>
第 10 章	基因和基因组的测序	160
10.1	链终止 DNA 测序	160
10.2	第二代测序法	166
10.3	如何进行基因组测序	172
	推荐阅读材料	179
第 11 章	基因表达和功能的研究	180
11.1	基因的 RNA 转录产物的研究	180
11.2	基因表达调控的研究	186
11.3	鉴定和研究克隆基因的翻译产物	193
	推荐阅读材料	199
第 12 章	基因组研究	201
12.1	基因组注释	201
12.2	转录物组和蛋白质组的研究	209

---

推荐阅读材料·····	216
<b>第三部分 基因克隆和 DNA 分析在生物技术中的应用</b> ·····	<b>219</b>
<b>第 13 章 克隆基因的表达</b> ·····	<b>220</b>
13.1 在大肠杆菌中的外源基因表达载体·····	222
13.2 在大肠杆菌中表达重组蛋白存在的问题·····	228
13.3 真核细胞中重组蛋白的表达·····	231
推荐阅读材料·····	236
<b>第 14 章 基因克隆和 DNA 分析在医学中的应用</b> ·····	<b>238</b>
14.1 重组药物的生产·····	238
14.2 人类疾病相关基因的识别和鉴定·····	249
14.3 基因治疗·····	254
推荐阅读材料·····	257
<b>第 15 章 基因克隆和 DNA 分析在农业中的应用</b> ·····	<b>258</b>
15.1 植物基因工程中的基因添加·····	258
15.2 基因消减·····	268
15.3 转基因植物的问题·····	270
推荐阅读材料·····	273
<b>第 16 章 基因克隆和 DNA 分析在法医学和考古学中的应用</b> ·····	<b>275</b>
16.1 利用 DNA 分析鉴定犯罪嫌疑人·····	275
16.2 利用 DNA 指纹图谱分析血缘关系·····	278
16.3 通过 DNA 分析进行性别鉴定·····	281
16.4 古遗传学——利用 DNA 研究人类进化·····	283
推荐阅读材料·····	288
<b>术语表</b> ·····	<b>290</b>

# 第一部分

## 基因克隆和 DNA 分析的基本原理

- 第1章 | 为什么说基因克隆与 DNA 分析非常重要
- 第2章 | 基因克隆的载体——质粒和噬菌体
- 第3章 | 从活细胞中纯化 DNA
- 第4章 | DNA 纯化后的利用
- 第5章 | 将 DNA 引入活细胞
- 第6章 | 大肠杆菌的克隆载体
- 第7章 | 真核生物的克隆载体
- 第8章 | 怎样获得特定基因的克隆
- 第9章 | 聚合酶链反应(PCR)

# 第 1 章

## 为什么说基因克隆与 DNA 分析非常重要

19 世纪中叶, Gregor Mendel 通过阐明一组法则来解释生物性状的遗传现象。而这些法则都建立在这样一个基本假设下, 即: 生物体的每个可遗传的性状都是由一个被称作“基因”(gene)的、以物质颗粒的形式存在于细胞的某个部位的因子所控制。Mendel 法则在 1900 年被重新发现, 标志着遗传学(genetics)的诞生, 从这以后, 理解并掌握这些控制遗传性状的基因的结构和功能就成为了这门学科前进的方向。

### 1.1 遗传学的早期发展

在最初的 30 年里, 这门新出现的学科以令人吃惊的速度向前发展着: W. Sutton 首先于 1903 年提出了基因是定位于染色体(chromosome)上的假设, 随后在 1910 年, 这一假设得到了 T. H. Morgan 的实验证实; 接下来, Morgan 和他的同事们开发出了基因作图(gene mapping)技术, 并通过这一技术于 1922 年取得了对果蝇全部 4 条染色体上的 2 000 多个基因相对位置的全面分析。

但除了这些经典遗传学研究的辉煌成果外, 直到 20 世纪 40 年代, 人们仍然没有认识到基因分子本质。事实上, 直到 Avery, MacLeod 和 McCarty 在 1944 年的实验以及 Hershey 和 Chase 在 1952 年的实验出现前, 没有任何人会相信脱氧核糖核酸(DNA)是遗传物质, 因为在这之前, 人们普遍认为基因是由蛋白质构成的。DNA 所扮演的角色的发现给遗传学研究带来了巨大的促进, 这个时期许多著名的生物学家(Delbrück, Chargaff, Crick 以及 Monod 是其中最具有影响力的)都为遗传学的第二个发展高峰做出了杰出的贡献。这一时期的成果是惊人的: 在 1952—1966 年这 14 年间, DNA 的结构被精确地表述, 遗传密码被破解, 转录和翻译的过程也得到了描述。

### 1.2 基因克隆和聚合酶链反应(PCR)的出现

经过一段时间的活跃发展之后, 遗传学迎来了一个平静的发展时期, 因此一些分子生物学家(一些年轻的遗传学家这样称呼自己)对这一时期没有出现非常重要的进展感到无法理解。实际上, 在当时 20 世纪 60 年代的后几年, 实验技术的精确性不足以满足对基因的更加细致的研究, 这成为了当

时遗传学发展的最大“瓶颈”。

然而,在 1971—1973 年间,遗传学研究又重新开始了新一轮的迅猛发展,这一切都要归功于当时实验生物学上的革命性进展。一整套全新的实验技术方法论被提了出来,使得原来不可能进行的实验可以被设计和实施,尽管这些实验也不是轻而易举的,但至少可以获得成功。这些新的方法,有时被称作**重组 DNA 技术**(recombinant DNA technology),有时也被称作**基因工程**(genetic engineering),其核心就是基因克隆,它们的出现标志着另一个遗传学伟大时代的到来。由基因工程发展而来的快速有效的 DNA 测序技术使得个体基因的结构确定成为可能,而这一切发展因为大规模基因组测序计划的出现而达到了顶峰,其中也包括已于 2000 年完成的人类基因组计划。而由基因工程发展出来的研究个体基因调控的方法,也使得分子生物学家们了解到基因调控的失常将有可能导致一系列的人体疾病,比如癌症。由重组 DNA 技术衍生出了**生物技术**(biotechnology),从而使得利用基因生产蛋白质及其他医药和工业过程所需的化合物变成了现实。

在 20 世纪 80 年代,当人们还沉浸在基因克隆革命所带来的激动之中的时候,谁也不会想到,另一个同样新颖、同样革命性的实验技术已出现在眼前。据说,1985 年某一天晚上,Kary Mullis 在驾车沿着 California 海岸线兜风时,灵机一动,发明了**聚合酶链反应**(polymerase chain reaction,PCR)。这一灵感所带来的结果就是:这项非常简单的技术,作为基因克隆的完美补充,在分子生物学的发展上发挥了关键的作用。PCR 相对于许多传统的基因克隆方法,把可能实现但相当困难的实验变得相对简单。它拓展了 DNA 分析的研究范围,使得分子生物学在其传统的应用领域如医学、农业、生物工程学之外找到了新的位置,生物分子考古学、分子生态学以及 DNA 法医学就是随着 PCR 的诞生而直接出现的新兴学科中的三个,从而分子生物学家们能够提出人类进化以及外界环境变化对生物圈的冲击等问题,并能将他们强大的工具运用于打击犯罪中。在基因克隆革命后的 40 年间,我们就像一直踩着溜冰鞋高速向前滑行一样,令人激动的事情始终都在眼前不断发生。

### 1.3 什么是基因克隆

基因克隆究竟是什么?最简单的回答如下:基因克隆实验的基本步骤见图 1.1:

- (1) 一段包含有需要克隆的目的基因的 DNA 片段,被插入到一个被称作**载体**(vector)的环状 DNA 分子中,即产生**重组 DNA 分子**(recombinant DNA molecule)。
- (2) 载体将目的基因转运到一个宿主细胞中,通常是一个细菌,但也能够使用其他种类的活细胞。
- (3) 载体在宿主细胞内增殖,产生大量同一的拷贝,不仅包括载体本身的基因,也包括它所携带的外源基因。
- (4) 宿主细胞繁殖时,重组 DNA 分子的拷贝转移到子细胞中,随着载体进行进一步复制。
- (5) 在多次细胞分裂后,一个由相同细胞组成的细胞群体,或称作一个克隆,被生产出来,每一个细胞都包含一个或多个重组 DNA 分子的拷贝,此时我们说重组分子所携带的目的基因就被克隆了。

### 1.4 什么是 PCR

PCR 与基因克隆有着很大不同,PCR 不是在活细胞内的一系列操作,而是在一个仅仅混有 DNA

1 重组 DNA 分子的构建

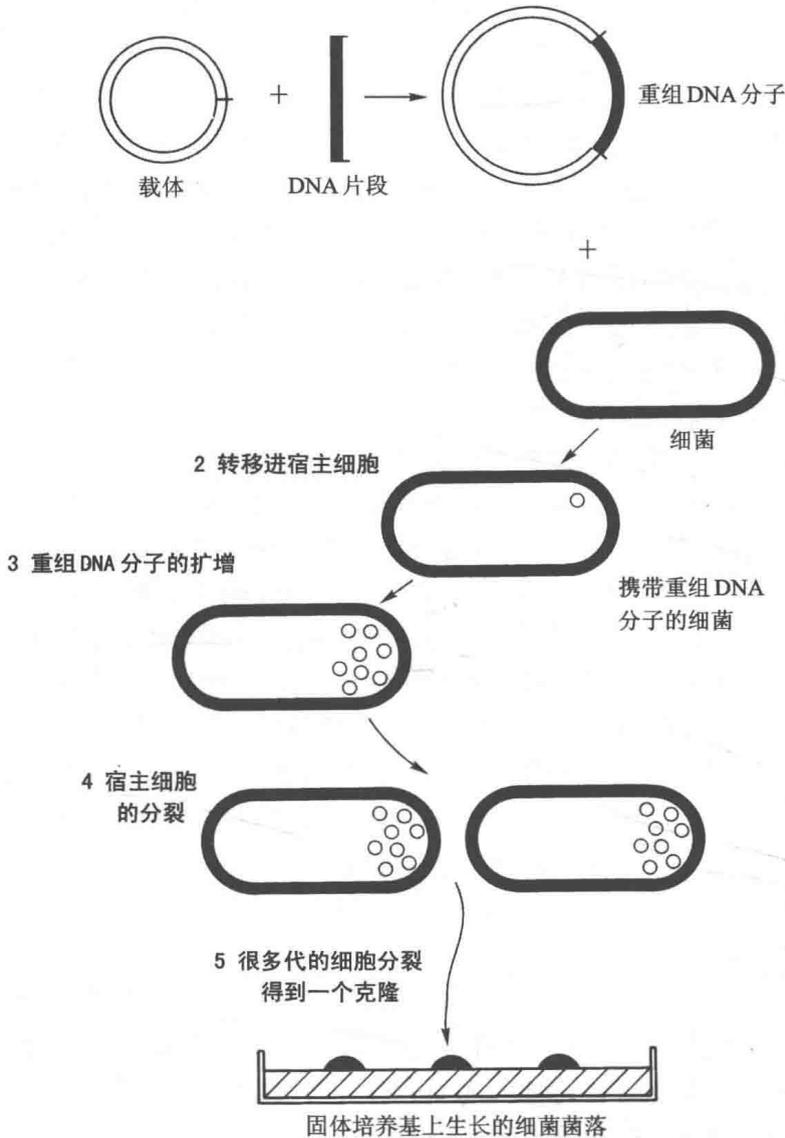


图 1.1 基因克隆的基本步骤

和一组反应物的普通试管中进行的:该试管被置于一个热的容器中,这个设备能够以一种预先设定好的方式使反应混合物在一系列变化的温度中进行反应。PCR 实验的基本步骤如下(图 1.2):

(1) 混合物被加热到 94℃,在该温度下,原本使 DNA 双螺旋的两条链结合在一起的氢键被打破,导致 DNA 分子**变性**(denature)。

(2) 混合物被冷却到 50 ~ 60℃,每个分子的两条双链能够在该温度下重新结合,但这种情况不大可能发生,因为混合物中含有大量的短 DNA 分子,称作**寡核苷酸**(oligonucleotide)或**引物**(primer),它们与长链 DNA 分子在特殊位点发生**退火**(anneal)。

(3) 接着温度又被升高到了 74℃。这是混合物中所加 **Taq DNA 聚合酶**(*Taq* DNA polymerase) 的最适工作温度。本书 4.1.3 将介绍更多有关 **DNA 聚合酶**(DNA polymerase) 的知识。这里所要知

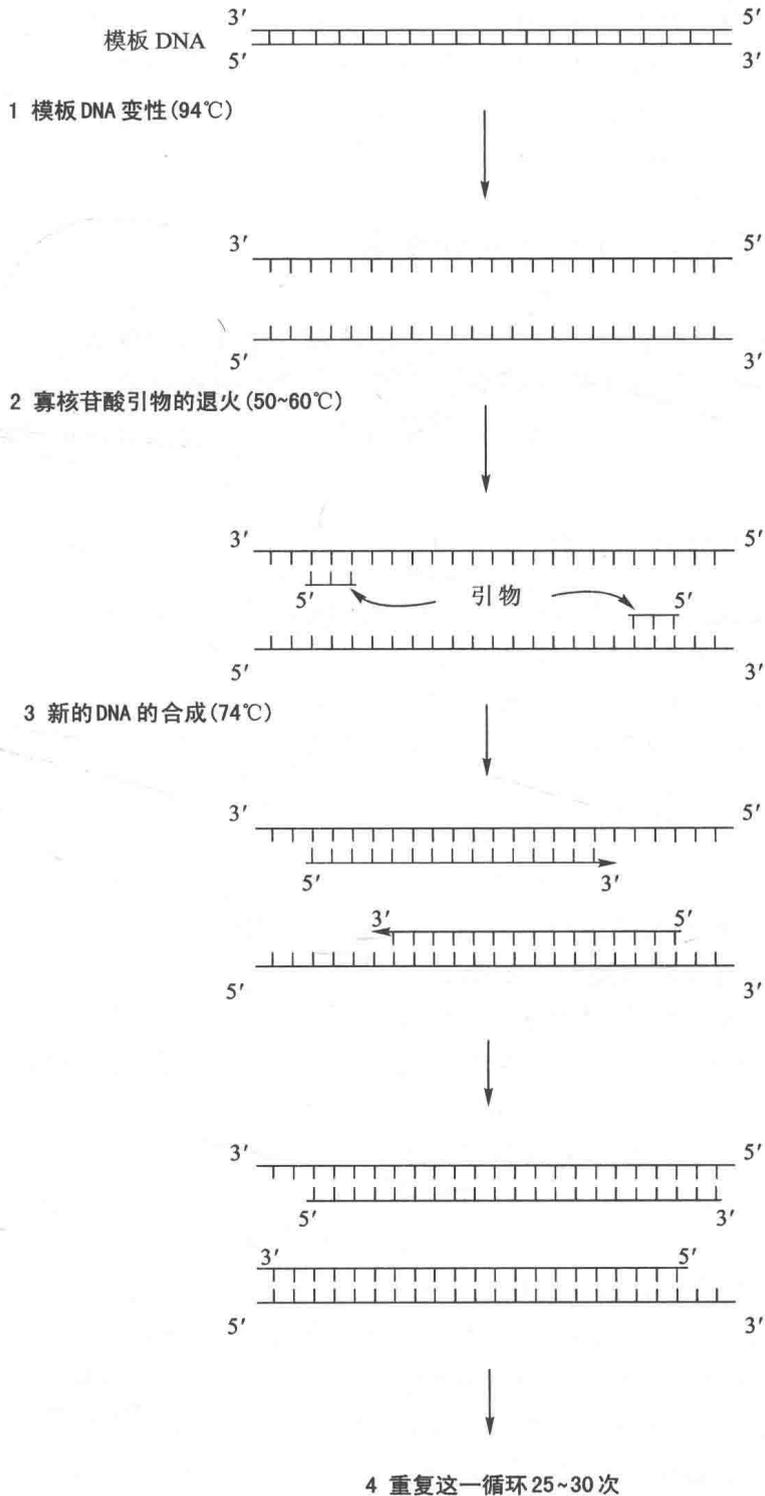


图 1.2 聚合酶链反应的基本步骤

道的就是: *Taq* DNA 聚合酶能够连接到每条引物的某一端并合成与模板 (template) DNA 互补的新链。这样与刚开始的两条链相比,我们就有了 4 条 DNA 链,实现了一次倍增。

(4) 接下来温度又被升到了 94°C。每一个双链 DNA 分子,都同时含有一条原来的链,而另一条

链是新合成的。这些双链 DNA 分子变性成为单链,又开始了第二轮变性—退火—合成的循环,并随之产生 8 条 DNA 链。在重复这一循环达 30 次后,我们在反应开始时用到的双链 DNA 分子将变成超过 1.3 亿的新的双链分子,其中每一个双链都是初始分子某个区段的拷贝,具体是哪个区段是由退火时引物所处的位点决定的。

## 1.5 为什么基因克隆和 PCR 如此重要

从图 1.1 和图 1.2 可以看出,无论是基因克隆还是 PCR 的实验步骤都相当简单和容易掌握,可为什么这样简单的实验技术却在生物学研究中占有如此重要的地位呢? 主要是因为这两项实验技术都提供了一种纯净的基因样品,这种基因样品来源于个体细胞并且能够和细胞中的其他基因相区别。

### 1.5.1 通过克隆对基因进行分离

要想确切了解基因克隆是怎样提供出纯净的基因样品的,需要再次提到图 1.1 的实验并且稍做改动(图 1.3)。在这个例子中所要克隆的 DNA 片段来源于一个由不同片段组成的混合物,每个片段都带有不同的基因或同一基因的不同部分。这个混合物甚至也可以是一个机体(比如人)的全部遗传互补序列。每个片段都会被连接到不同的载体分子,产生一个重组 DNA 分子家族,其中的一个重组分子携带有我们所感兴趣的目 的基因。通常情况下,每个宿主细胞只能够被一个重组 DNA 分子所转化,因此尽管最后所得到的克隆产物可能包含有许多不同的重组 DNA 分子,但所形成的每一个克隆所包含的是单一分子 的多个拷贝,这样一来,基因就从最初的混合物中与其他基因实现了分离,也就能够对它的特殊性质进行更加详细的分析。

实际上,决定基因克隆实验是否成功的关键,在于能否从最初得到的许多不同基因中鉴别出感兴趣的特定基因。比如说,当拿到一个包含有超过 4 000 个不同基因的大肠杆菌基因组(genome)的时候,我们也许就会对如何从这么多可能的克隆中找到一个基因感到困扰(图 1.4)。而当我们想到细菌只是相对简单的生物,人类的基因组所包含的基因数量更是 10 倍之多时,问题似乎就变得更加严峻了。然而,就像在第 8 章我们将要解释的那样,通过种种不同的措施,能够帮助我们确

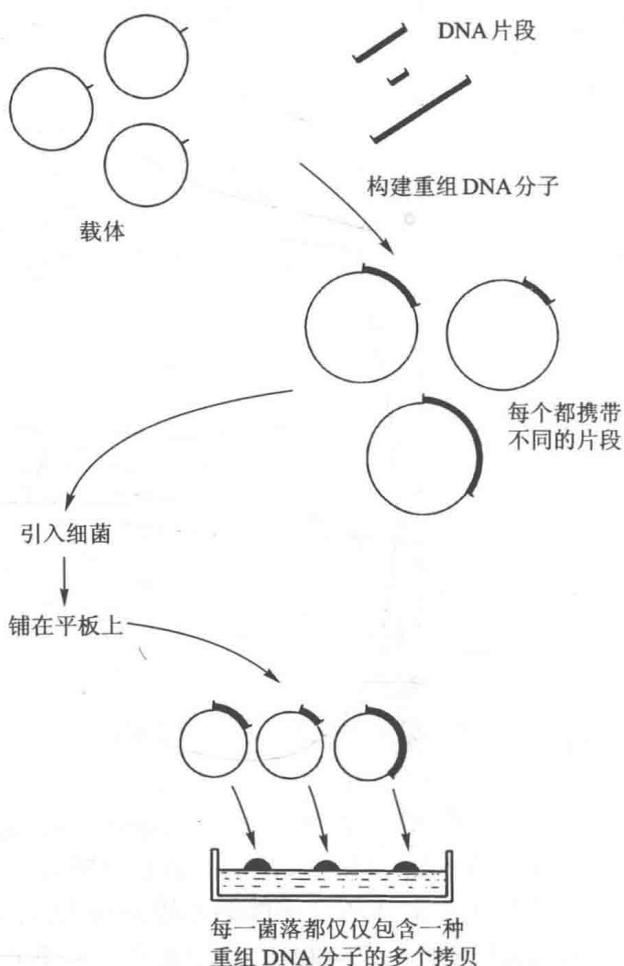


图 1.3 克隆使个体基因片段被纯化

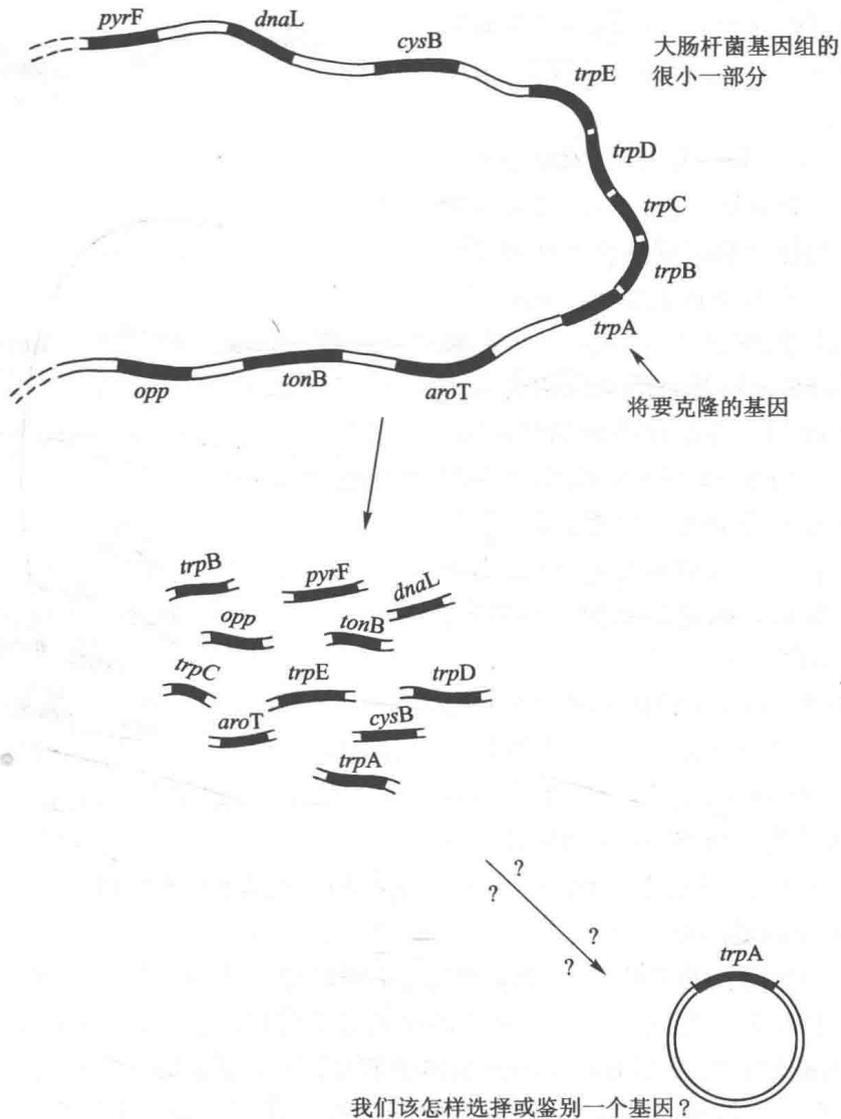


图 1.4 选择时要面对的问题

保在克隆实验结束的时候获得正确的基因克隆。这些措施中包含了对基础克隆步骤的改进,使得只有包含所需要的重组 DNA 分子的细胞才能够分裂并且所需的克隆能够自动被**筛选**(selected)。还有其他一些方法可以从一大堆不同基因克隆混合物中鉴定出目的克隆。

一旦一个基因被克隆出来,我们就可以几乎不受限制地得到关于这个基因结构和功能方面的相关信息。克隆产品在运用中使用到的一系列新的实验技术也刺激了基因研究分析方法学的进步。关于研究克隆基因产物的结构和功能的方法将在第 10 章和第 11 章分别进行介绍。

### 1.5.2 通过 PCR 对基因进行分离

PCR 也能够被用来获得纯净的基因样品。这是因为,在 PCR 过程中被复制的初始 DNA 片段是一个两端由两条寡核苷酸链引物退火位点所标记的片段。如果引物在目的基因的两端都发生了退火,那么目的基因的大量拷贝就会被合成出来(图 1.5),结果就会产生与基因克隆相同的效果。而同时在

对目的基因进行选择时所遇到的问题也并没有增加,因为在引物退火过程中进行位置选择时,就已经实现了目的基因的筛选。

一次 PCR 可以在数小时内完成,相对于即使用不了一个月也要花好几周才能完成的基因克隆要方便得多,但是,为什么基因克隆仍然在被人们使用呢? 这里就不得不提到 PCR 的两个局限性:

(1) 为了使引物能够在正确的位置与模板 DNA 实现退火,我们必须清楚目的基因两端将要发生退火的位点的序列。在已知序列的情况下,合成引物是件很容易的事(参见 8.4.3),但是如果对要进行退火的位点的序列并不清楚,那么也就无法制造出合适的引物。这就意味着,PCR 不可能用来对一些从未进行过研究的基因进行分离,而这就要用到基因克隆技术。

(2) 利用 PCR 进行扩增的 DNA 序列在长度上受到一定的限制。通常 5 kb 的片段能够顺利地进行复制,而长度达到 40 kb 的片段在复制时就要采用一些特殊的技术处理,但 40 kb 对于许多基因来说还是太短了,尤其是人类和其他哺乳类动物的一些基因。如果需要的是一个长基因的完整拷贝,那么就必须使用基因克隆技术。

因此基因克隆是分离长的或从未进行过研究的基因的唯一方法。但是 PCR 在这方面仍然还有许多重要的应用。比如说,即使对一个模板基因的序列并不清楚,仍然有可能制造一对合适序列的引物进行扩增,这样做的前提是要知道在其他生物体中起相同作用基因的序列,具体来说,就是可以根据从老鼠中分离并测序的基因,来设计一对合适的引物,从而达到分离人类细胞中具有相同作用基因的目的。

此外,在许多应用中都有必要对已知序列的基因进行分离和探测。比如,人体球蛋白基因的 PCR,可被用来检测可能导致地中海贫血的基因突变。为这个 PCR 设计适当的引物是一件很简单的事,因为人类球蛋白的基因是序列已知并得到充分研究的。在 PCR 完成之后,就可以利用其他方法对基因拷贝进行测序或进一步研究,以判断是否存在导致地中海贫血的基因突变。

PCR 的另一临床应用是关于专用于致病病毒 DNA 的引物的。一个阳性结果可以显示出某个样品包含该病毒,而提供该样品的人在经历一定治疗后能够防止该疾病的发作。PCR 灵敏度极高:经过仔细建立的反应能够获得可检测量的 DNA,即便在最初的反应混合物中只有一个需要扩增 DNA 分子。也就是说,这项技术能够在病毒感染的最初阶段就将其检测出来,增加了治愈此疾病的机会。这种高度灵敏性意味着 PCR 也能够用于扩增法医鉴定时涉及的 DNA,比如来源于头发和干了的血迹,甚至已死去很久的人的骨骼(参见第 16 章)。

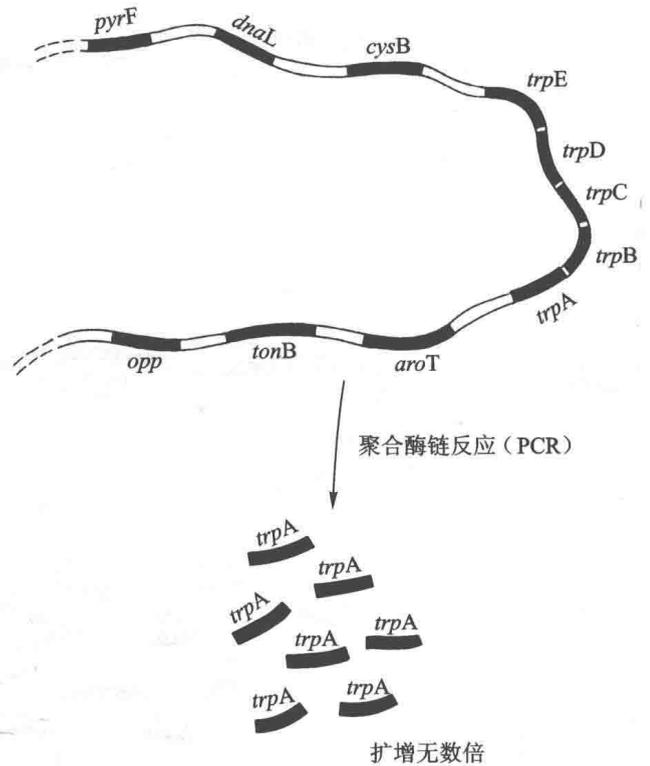


图 1.5 通过 PCR 分离基因