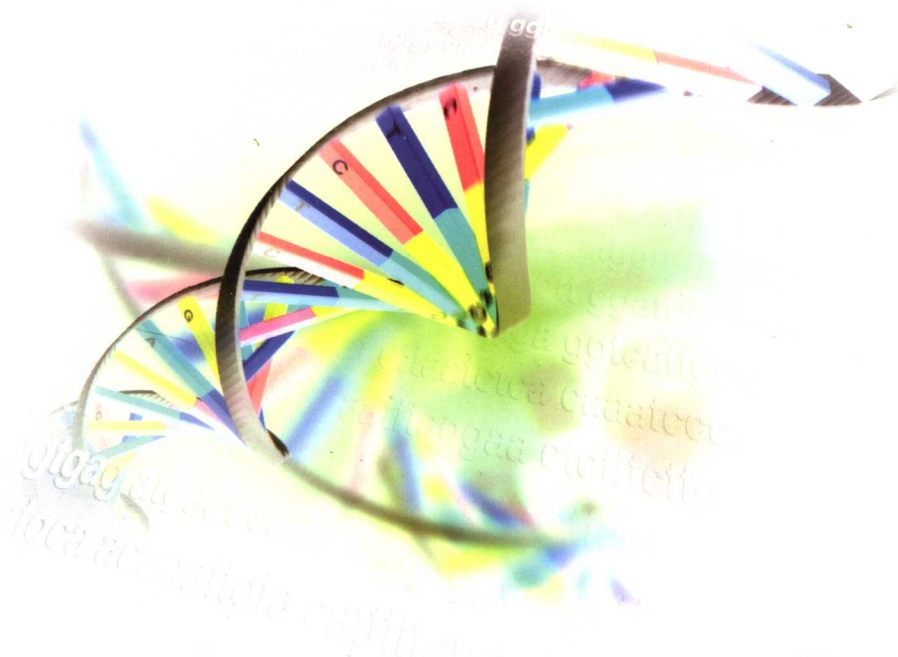


生物实验室系列

分子生物学 实验技术

屈伸 刘志国 主编



Chemical Industry Press



化学工业出版社
生物·医药出版分社

58.178

341

生物实验室系列

分子生物学实验技术

屈 伸 刘志国 主编

本书是关于分子生物学实验技术的一部综合性著作。它全面覆盖了有关分子生物学实验技术的诸多领域,包含了生物大分子制备和分析常用技术、蛋白质与核酸的提取与分离、PCR 技术、分子杂交与印迹技术、分子克隆技术、外源基因转移技术、蛋白质表达技术、分子标记技术、分子改造技术、测序及人工合成技术、基因组学技术、蛋白质组学技术、生物芯片技术、生物信息学技术、RNA 研究技术等。

作为一本实验技术类专著,本书不仅较详细地阐述了有关技术的具体操作和程序,更着力于对各种技术的基本原理及其相关理论基础进行深层次的剖析。故本书不仅可作为从事生命科学,特别是分子生物学相关领域工作者的实验室必备参考工具书,同时也可供高校相关专业师生及科学工作者对分子生物学实验技术的理论做深入探讨时参考。

图书在版编目(CIP)数据

分子生物学实验技术/屈伸,刘志国主编. —北京:化学工业出版社,2007.9

(生物实验室系列)

ISBN 978-7-122-01028-5

I. 分… II. ①屈…②刘… III. 分子生物学-实验IV. Q7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 135059 号

责任编辑:郎红旗 周旭 邵桂林

责任校对:宋玮

装帧设计:关飞

出版发行:化学工业出版社 生物·医药出版分社(北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印刷:大厂聚鑫印刷有限责任公司

装订:三河市延风装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张 29 $\frac{3}{4}$ 字数 722 千字 2008 年 1 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价: 65.00 元

版权所有 违者必究

出版者的话

21 世纪是生命科学的世纪，这已成为人们的共识。

生命科学随着人类对自身和自然的认识、探索而萌芽，随着人类生产和科学实践的进步而发展。现代生命科学包括生物学、医学、农学等传统学科领域，以及生物学、生物技术与环境科学乃至社会科学等其他学科相互渗透、交叉而产生的新型学科体系。20 世纪后叶现代生物科学尤其是分子生物学取得了一系列突破性成就，使得生命科学在自然科学体系中的位置发生了革命性的变化，成为 21 世纪的带头学科。人们对生命科学也寄予了无限的期望，希望能够解决人类社会所面临的人口膨胀、资源匮乏、疾病危害、环境污染和生态破坏等一系列重大问题。

回顾生命科学的发展历程，实验技术一直起着非常重要的促进作用。如 17 世纪 Leeuwenhoek 等人发明并应用显微镜技术，直接催生了“细胞学说”的建立和发展；1973 年 Cohn 和 Boyer 完成了 DNA 体外重组实验，标志着基因工程的肇始；1988 年 Kary Mullis 发明的 PCR 技术甚至使生命科学产生了飞跃性的发展。可以说，生命科学无时无刻离不开实验，实验是开启神奇的生命王国大门的钥匙。没有实验技术的不断进步，也就没有生命科学今天的巨大发展；同时，生命科学的发展又对实验技术提出了更高的要求，进一步刺激了后者的不断进步。生命科学正是在“实验催生和验证着基础理论，理论指导和发展了实验技术”的不断循环中从必然王国走向自由王国。

工欲善其事，必先利其器。为了有助于生命科学工作者更多地了解相关实验技术和仪器设备，更好地设计实验方案，更有效地开展实验过程，更合理地处理实验结果，化学工业出版社组织出版了“生物实验室系列图书”。系列图书在整体规划的基础上，本着“经典、前沿、实用，理论与技术并重”的原则组织编写，分批出版。

在题材上，系列图书涵盖综合实验技术和单项实验技术两个方面。其中综合实验技术既有以实验目的为题，如“蛋白质化学分析技术”，内容纵向覆盖多项实验技术；也有以某一生命学科领域的综合实验技术为题，如“发酵工程实验技术”、“生物化学实验技术”等。而单项实验技术则以深入介绍某一专项技术及其应用为主，在阐述其基本原理的基础上，横向介绍该项技术在多个领域的应用，如“双向电泳技术”、“流式细胞术”等。

在内容上，系列图书主要有以下两个显著特点。一是强调先进性——除了系统介绍常用和经典实验技术以外，特别突出了当前该领域实验手段的新理论、新技术、新发展，为国内专业人员起到借鉴和引导作用。二是强调可操作性——对于每一项实验技术，系统介绍其原理方法、设备仪器和实验过程，让读者明了实验的目的、方案设计以及具体步骤和结果处理，以期起到实验指南的作用。

本系列图书坚持质量为先，开拓国内和国际两个出版资源。一方面，约请国内相关领域兼具理论造诣和丰富实验室工作经验的专家学者编著；另一方面，时刻关注国际生命科学前沿领域和先进技术的进展，及时引进（翻译或影印）国外知名出版社的权威力作。

“生物实验室系列图书”的读者对象设定为国内从事生命科学及生物技术和相关领域（如医学、药学、农学）的专业研究人员，企业或公司的生产、研发、管理技术人员，以及高校相关专业的教师、研究生等。

我们殷切希望“生物实验室系列图书”的出版能够服务于我国生命科学的发展需要，同时热忱欢迎从事和关心生命科学的广大科技人员不仅对已出版图书提供宝贵意见和建议，也能对系列图书的后续题目设计贡献良策或推荐作者，以便我们能够集思广益，将这一系列图书沿着可持续发展的方向不断丰富品种，推陈出新。

谨向所有关心和热爱生命科学，为生命科学的发展孜孜以求的科学工作者致以崇高的敬意！

祝愿我国的科技事业如生命之树根深叶茂，欣欣向荣！

化学工业出版社
生物·医药出版分社

前 言

1953 年 Watson 和 Crick 等提出 DNA 的双螺旋结构模型, 阐明了遗传信息的传递规律, 从而开辟了分子生物学的新纪元。20 世纪 70 年代中期出现的分子克隆技术进一步推动了分子生物学的快速发展。进入 21 世纪, 随着人类基因组计划的顺利完成, 分子生物学研究发展到基因组及后基因组时代, 各种组学技术的发展加快了生物学领域中科学研究的进程, 同时也带动和促进了许多新技术、新方法的发展, 并与许多相关学科交叉、融合, 派生出许多新的学科, 如: 分子遗传学、分子医学等。不仅如此, 在应用领域, 利用分子生物学原理和方法不仅可以大规模生产多种基因工程药物、基因工程疫苗, 而且可以治疗人类遗传疾病, 改良动、植物品种, 及获得转基因动物和转基因植物等, 创造出巨大的社会与经济价值。在新的世纪里, 随着分子生物学研究的不断深入及新的研究方法和技术的大量涌现, 分子生物学正成为带动生命科学发展、促进科技进步的重要学科力量。

本书较为系统地介绍了分子生物学领域中大量使用的实验技术原理和方法。从较为基础的生物分子的提取、制备及检测, 到步骤相对复杂的分子克隆技术; 从离心、电泳等通用技术, 到针对性强的 PCR 技术、分子杂交等技术; 从局部的、单个对象的研究, 到群体和组学的研究等。这使本书成为一本较为完整的分子生物学实验技术和方法的参考书。在内容安排上, 本书编写遵循分子生物学研究的一般顺序, 从常用的基本的技术开始, 如生物分子的提取和分析, 过渡到较为独立的专门方法, 如: PCR 技术、分子标记技术、分子杂交技术等, 再到较为复杂的克隆技术, 最后介绍最新的基因组学技术、蛋白质组学技术、生物信息技术等。本书重点突出分子生物学实验技术的系统性和对实验的指导性, 希望能为分子生物学及相关专业的科研、教学、技术人员和研究生提供一本较为系统全面的实验指南。

本书编写人员均从事分子生物学研究工作多年, 具有丰富的分子生物学理论知识和研究经验。编写中注意做到理论与实践结合, 注重突出重点和对实验的指导性。本书编写过程中得到了有关单位的大力支持, 华中科技大学同济医学院、武汉大学病毒研究所、武汉工业学院等院校的教师为本书的编写提供了大量资料, 化学工业出版社为本书的顺利出版做了大量的工作, 在此, 对上述单位及相关人员的大力支持表示衷心的感谢。由于分子生物学技术和方法的复杂性并处于快速发展中, 以及编写人员知识的局限, 书中难免出现缺点和错误, 恳请读者提出宝贵意见。

编者
2007 年 6 月

目 录

第一章 生物大分子制备和分析常用技术	1
第一节 概论	1
一、预处理和细胞的分离	1
(一) 选择材料及预处理	1
(二) 细胞的分离	2
二、细胞的破碎及细胞器的分离	3
第二节 电泳技术	5
一、基本原理	6
二、影响电泳的因素	7
三、醋酸纤维素薄膜电泳	8
四、琼脂糖凝胶电泳	9
(一) 核酸分子大小与琼脂糖浓度的关系	9
(二) 核酸构型与琼脂糖凝胶电泳分离的关系	9
(三) 琼脂糖凝胶电泳基本方法	10
五、常规聚丙烯酰胺凝胶电泳	10
(一) 聚丙烯酰胺凝胶聚合原理及相关特性	11
(二) 聚丙烯酰胺凝胶电泳原理	12
(三) 操作方法	13
六、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳原理	14
七、聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳	15
八、聚丙烯酰胺凝胶等电聚焦电泳	16
(一) 等电聚焦的原理	17
(二) pH梯度的形成	17
九、双向凝胶电泳	18
十、染色方法	19
(一) 蛋白质染色	19
(二) 核酸染色	20
第三节 色谱技术	21
一、色谱技术的概念	21
二、色谱法的分类	21
(一) 按两相所处的状态分类	21
(二) 按色谱的分离机制分类	22
三、常用的色谱方法	23
(一) 凝胶色谱	23
(二) 离子交换色谱	24
(三) 亲和色谱	26

(四) 高效液相色谱	27
(五) 毛细管电泳	28
第四节 离心技术	31
一、离心理论	32
(一) 离心分离的原理	32
(二) 相对离心力和离心时间	33
(三) 离心机的分类	35
二、离心分离的种类	35
(一) 差速离心法	36
(二) 密度梯度离心法	36
三、离心操作注意事项	37
第五节 分光光度技术	38
一、基本原理——朗伯-比尔定律	38
二、分光光度技术的应用	39
(一) 定量分析	39
(二) 定性分析	40
第二章 蛋白质、核酸的提取与分离	42
第一节 蛋白质的提取、分离纯化及定量	42
一、蛋白质(包括酶)的提取	42
(一) 水溶液提取法	42
(二) 有机溶剂提取法	43
二、蛋白质的分离纯化	43
(一) 根据蛋白质溶解度不同进行分离的方法	44
(二) 利用色谱技术对蛋白质进行分离纯化	45
(三) 利用电泳技术对蛋白质进行纯化分离	48
(四) 利用超速离心分离制备蛋白质	48
(五) 膜分离技术在蛋白质分离纯化中的应用	49
(六) 重组蛋白的分离纯化	50
(七) 分离制备蛋白质的一个实例	52
三、蛋白质的定量	55
第二节 DNA 的提取与分离	57
一、质粒 DNA 的提取与分离	57
(一) 质粒提取的一般步骤	57
(二) 质粒 DNA 的小量制备	58
(三) 质粒 DNA 的大量制备	59
二、染色体 DNA 的提取与分离	61
(一) 从培养细胞中提取 DNA	61
(二) 从组织中提取 DNA	62
(三) 从大量血样的白细胞中分离高分子量 DNA	62
(四) 从小量血样的白细胞中分离高分子量 DNA	63
(五) 高分子量 DNA 的小量快速制备	63

第三节 RNA 的提取与分离	63
一、组织培养细胞胞质 RNA 的制备	64
二、胍盐法制备总 RNA	66
(一) 氯化铯纯化培养细胞的 RNA	66
(二) 氯化铯纯化组织中的 RNA	67
(三) 一步法从培养细胞或组织中分离 RNA	68
三、细菌 RNA 的制备	69
(一) 从革兰阴性菌中分离高质量 RNA	69
(二) 革兰阳性菌 RNA 的分离	71
(三) 革兰阴性菌 RNA 的快速分离	71
四、poly(A) ⁺ RNA 的制备	72
第四节 核酸的定量测定	73
一、紫外分光光度法测定 DNA 和 RNA 的含量	73
二、电泳比较法 (溴化乙锭荧光法)	74
三、定磷法测定核酸	74
四、二苯胺法测定 DNA 含量	75
五、地衣酚法测定 RNA 含量	75
第三章 PCR 技术	77
第一节 PCR 技术基础	77
一、基本原理	77
(一) 反应过程	77
(二) 产物类型	78
(三) 平台效应	78
二、PCR 技术的特点	79
三、标准 PCR 反应	79
四、影响因素	80
(一) 模板	80
(二) 引物	81
(三) 循环参数	82
(四) <i>Taq</i> DNA 聚合酶及其浓度	83
(五) Mg ²⁺ 浓度	83
(六) dNTP 浓度	83
(七) 其他辅助试剂	84
五、扩增产物的检测分析	84
(一) 琼脂糖凝胶电泳	84
(二) 聚丙烯酰胺凝胶电泳	85
(三) 核酸探针杂交鉴定法	85
(四) 限制性内切酶分析法	85
(五) 单链构型多态性分析法	86
六、PCR 条件优化	86
(一) 常规的优化方法	86

(二) 降落 PCR	86
七、PCR 常见问题与对策	87
(一) PCR 污染	87
(二) 污染的预防	87
(三) 实验中的对照	87
(四) 扩增反应总是阴性结果(无产物)时应采取的措施	87
(五) 出现非特异性产物时应采取的措施	88
第二节 PCR 技术的扩展	88
一、逆转录 PCR	88
二、定量 PCR	89
(一) 利用参照物的定量方法	89
(二) 竞争性定量 PCR	89
(三) 荧光定量 PCR	90
三、重组 PCR	91
四、反向 PCR	92
五、不对称 PCR	92
六、复合 PCR	92
七、着色互补 PCR	93
八、锚定 PCR	93
九、原位 PCR	93
十、膜结合 PCR	93
十一、固着 PCR	93
十二、增效 PCR	94
第三节 PCR 技术的应用	94
一、PCR 技术在分子生物学中的应用	94
二、PCR 技术在传染病病原体检测中的应用	95
三、PCR 在肿瘤相关基因检测中的应用	96
四、PCR 技术在遗传病早期诊断中的应用	97
五、PCR 在骨髓移植 HLA-D 位点配型中的应用	98
六、PCR 技术在法医学鉴定中的应用	98
七、PCR 在进化分析中的应用	99
第四章 分子杂交与印迹技术	100
第一节 核酸杂交的基本理论	100
一、DNA 变性、复性及杂交	100
二、核酸探针	101
三、核酸杂交方法	102
(一) 影响杂交的因素	102
(二) 固相杂交法	103
(三) 液相杂交法	104
(四) 杂交信号的检测	107
第二节 常用印迹杂交方法	107

一、Southern 印迹杂交法	107
二、Northern 印迹杂交法	111
三、斑点及狭缝印迹杂交	113
四、菌落原位杂交法	113
五、核酸原位杂交法	115
(一) 组织与细胞的固定	115
(二) 载片和组织切片的处理	115
(三) 杂交	116
(四) 杂交后处理	118
(五) 显示	119
(六) 对照实验和核酸原位杂交结果的判断	119
六、Western 印迹杂交法	120
(一) 蛋白质的分离	120
(二) 转膜	120
(三) 鉴定用膜的准备	121
(四) 鉴定	122
第五章 分子克隆技术	123
第一节 概述	123
一、分子克隆的基本步骤	123
二、分子克隆研究的内容	124
(一) 分子克隆工具的研究	124
(二) 分子克隆技术的研究	124
(三) 克隆对象——目的基因的研究	124
(四) 分子克隆产品的研究	124
第二节 克隆操作中需要的工具酶	125
一、限制性核酸内切酶	125
(一) 限制性核酸内切酶的类别	126
(二) 同工异源酶与同尾酶	127
(三) 限制性核酸内切酶活性及其影响因素	128
二、DNA 连接酶	128
三、DNA 聚合酶	129
(一) DNA 聚合酶 I	129
(二) Klenow 酶	129
(三) <i>Taq</i> DNA 聚合酶	129
(四) 逆转录酶	130
(五) T4 DNA 聚合酶	130
(六) T7 DNA 聚合酶	131
四、修饰酶	131
(一) 碱性磷酸酶	131
(二) 末端转移酶	132
(三) T4 多核苷酸激酶	132

(四) S1 核酸酶	132
第三节 基因克隆载体	133
一、质粒载体	133
二、噬菌体载体	135
三、黏粒载体	137
第四节 基因克隆的一般方法	137
一、获得目的基因的常用方法	137
(一) 化学合成法	137
(二) 逆转录 PCR 克隆目的基因	138
(三) PCR 方法克隆目的基因	139
(四) 利用基因表达差异的克隆方法	139
二、目的基因与载体连接	141
(一) 具黏性末端的 DNA 片段之间的连接	141
(二) 平末端的连接	142
三、构建文库克隆目的基因	143
(一) 构建 cDNA 文库克隆目的基因	143
(二) 构建基因组文库克隆目的基因	147
四、利用差异文库的克隆方法	150
(一) 差别杂交和扣除杂交克隆的目的基因	150
(二) 代表性差别分析技术克隆目的基因	151
(三) 抑制性扣除杂交技术	153
第五节 克隆筛选与鉴定	155
一、重组 DNA 导入受体细胞	155
二、重组体的筛选与鉴定	156
(一) 根据遗传表型的筛选方法	156
(二) 依赖重组子结构特征的筛选法	158
第六章 外源基因转移技术	160
第一节 外源基因导入原核细胞的常用方法	160
一、自然条件下的转化现象	160
二、受体细胞的选择	161
三、转化方法	162
(一) CaCl_2 诱导大肠杆菌转化法	162
(二) 电穿孔驱动完整细胞转化	164
(三) PEG 介导的细菌原生质体转化	164
(四) 通过接合作用传递质粒 DNA	165
(五) λ 噬菌体的转导和转染	165
四、转化率及其影响因素	166
第二节 外源基因导入真核细胞的方法	167
一、物理方法	168
二、化学方法	170
三、生理方法	174

第三节 病毒载体介导的基因转移	175
一、RNA 病毒载体及其介导的基因转移	175
(一) 逆转录病毒	175
(二) 逆转录病毒载体	176
二、DNA 病毒载体及其介导的基因转移	179
(一) 腺病毒载体	179
(二) 腺病毒相关病毒载体	180
(三) 疱疹病毒载体	180
(四) 嵌合(杂合)病毒载体	181
第四节 报告基因的应用	181
一、报告基因及其应用范围	181
(一) 报告基因	181
(二) 报告基因的应用	182
二、常见的几种报告基因及其应用	183
(一) 荧光素酶	183
(二) 绿色荧光蛋白	184
(三) 氯霉素乙酰转移酶(CAT)	187
(四) β -半乳糖苷酶	187
(五) 分泌型的碱性磷酸酶(SEAP)	188
(六) 人生长激素(hGH)	188
(七) β -葡萄糖醛酸酶(GUS)	189
第七章 蛋白质表达技术	190
第一节 外源基因在原核细胞中的表达	190
一、大肠杆菌表达系统	190
(一) 大肠杆菌表达载体的表达元件	190
(二) 大肠杆菌的表达载体	194
(三) 外源基因在大肠杆菌中表达	197
(四) 提高外源基因表达水平的措施	199
(五) 包含体	200
二、芽孢杆菌表达系统	201
(一) 芽孢杆菌基因表达的特点	201
(二) 芽孢杆菌表达系统	202
(三) 存在的问题	203
三、链霉菌表达系统	204
(一) 链霉菌的生物学特征	204
(二) 链霉菌基因表达的特点	205
(三) 链霉菌基因表达系统	206
(四) 影响链霉菌中基因表达的因素	208
(五) 链霉菌表达系统的优缺点	209
第二节 外源基因在真核细胞中的表达	209
一、酵母表达系统	209

(一) 酵母表达系统的组成	210
(二) 酵母表达系统的应用策略	213
二、昆虫表达系统	216
(一) 杆状病毒表达系统	216
(二) 家蚕核型多角体病毒 (BmNPV) 表达系统	220
第三节 哺乳动物细胞表达系统	220
一、哺乳动物细胞表达系统的构成	221
(一) 宿主细胞	221
(二) 表达载体	222
(三) 目的基因	225
二、常用的细胞表达系统	225
三、基因的导入方法	226
四、外源基因在哺乳细胞的表达和基因表达产物的检测	226
五、哺乳动物细胞表达系统的改进策略	226
(一) 改进表达载体, 提高表达水平	226
(二) 改造宿主细胞及培养手段	228
(三) 提高产品质量	229
(四) 筛选高表达细胞克隆的新方法	230
第四节 重组蛋白的检测与鉴定	230
一、定量分析	230
二、纯度分析	230
三、重组蛋白质的鉴定	231
第八章 分子标记技术	233
第一节 概述	233
一、放射性同位素	233
(一) 放射性同位素的基本性质	233
(二) 放射性强度及其度量单位	234
(三) 射线与物质的相互作用	234
(四) 射线的防护	234
二、放射性同位素标记	235
三、非同位素标记	236
(一) 发光信号的特点	236
(二) 化学发光的本质	237
(三) 生物发光	237
(四) 荧光的基础	237
第二节 核酸的标记	238
一、放射性同位素标记探针	238
(一) 切口平移法	238
(二) 末端标记法	240
(三) 随机引物法标记 DNA 片段	243
(四) 聚合酶链反应标记高活性 DNA 探针	244

二、非放射性同位素标记	244
(一) 间接非同位素标记	245
(二) 用生物素、地高辛或荧光素标记探针的方法	245
(三) DIG 标记实例	248
(四) 直接非同位素标记	249
第三节 蛋白质的标记	250
一、荧光标记	250
(一) 利用氨基的标记方法	250
(二) 利用巯基的标记方法	252
(三) 利用醇羟基的标记方法	253
二、利用酶、酶的底物及酶抑制剂的标记	253
(一) 糖苷酶及其底物	254
(二) 磷酸酶类及其底物	254
(三) 其他酶与底物	255
(四) 生物素与亲和素系统	255
三、利用抗体的标记技术	256
(一) 免疫荧光标记技术	256
(二) 放射免疫标记技术	257
(三) 酶免疫标记技术	258
(四) 胶体金标记技术	258
(五) 发光免疫标记技术	259
第九章 分子改造技术	261
第一节 概述	261
第二节 蛋白质的体外改造	262
一、寡核苷酸指导的诱变方法	262
(一) 非 PCR 的诱变方法	263
(二) PCR 方法	263
(三) 诱变寡核苷酸的设计	265
二、随机诱变	266
(一) 化学诱变	266
(二) 丙氨酸扫描诱变	267
三、突变体筛选方法	267
(一) 限制酶切割区分亲本模板与突变产物	268
(二) 单一限制位点的消除	268
四、分子进化	268
(一) 概念	268
(二) 基本方法	269
第三节 蛋白质改造技术的应用	271
一、点突变	271
二、结构域改组	271
三、全蛋白的重组	272

四、蛋白质-配体相互作用	272
第四节 单克隆抗体的改造	273
一、抗体的产生和抗体的结构	274
二、多抗、单抗及重组抗体	275
三、抗体改造	276
(一) 人-鼠嵌合抗体	276
(二) 小分子抗体	277
(三) 双功能抗体	277
(四) 抗体融合蛋白	278
第十章 测序及人工合成技术	279
第一节 DNA 序列测定	279
一、Sanger 双脱氧链终止法	279
(一) Sanger 双脱氧链终止法的原理	279
(二) Sanger 双脱氧链终止法所需关键试剂	280
(三) 用于测序的变性凝胶电泳	282
(四) 大片段 DNA 的测序策略	282
二、Maxam-Gilbert 化学修饰法	283
(一) 化学裂解法测序的原理	283
(二) 化学试剂特异断裂 DNA 的机制	284
三、DNA 序列的自动测序	284
第二节 DNA 的化学合成	285
一、DNA 化学合成的原理	286
(一) 磷酸三酯法合成寡核苷酸的原理	286
(二) 固相亚磷酸三酯法合成寡核苷酸的原理	286
(三) 用寡核苷酸片段组装基因的方式	288
二、DNA 合成技术在分子生物学研究中的应用	289
第三节 蛋白质和多肽的氨基酸序列测定	291
一、序列测定前的准备	291
(一) 蛋白质纯化	291
(二) 肽链的分离	292
(三) 肽链的部分裂解	292
(四) 肽片段的分离	293
二、序列测定的方法和原理	294
(一) 手工测序	294
(二) 自动序列分析	297
三、影响测序的因素	298
第四节 蛋白质或多肽的化学合成	298
一、氨基酸官能团的保护	299
二、羧基的活化和肽键的生成	301
三、合成肽的脱保护基及纯化	302
第十一章 基因组学技术	305

第一节 结构基因组学及常用研究技术	305
一、基因组作图	305
二、新基因的分离——cDNA 末端快速扩增 (RACE) 技术	307
三、基因组序列测定技术	310
四、基因定位技术	311
(一) 荧光原位杂交 (FISH) 技术	311
(二) 辐射杂种细胞系 (RH) 技术	312
第二节 功能基因组学及常用研究技术	312
一、基因突变检测 (分析) 技术	313
(一) 单链构象多态性 (SSCP) 技术	313
(二) 变性梯度凝胶电泳 (DGGE) 技术	315
(三) 直接测序法	317
(四) 单碱基延伸标签阵列技术 (SBE-TAGS)	318
(五) 异源双链分析技术	318
(六) 连接酶链反应	318
(七) 等位基因特异性寡核苷酸杂交 (ASOH)	318
(八) RNA 酶 A 切割法	319
(九) 基于 PCR 与酶切的技术	319
(十) 高通量检测技术	320
二、比较基因组杂交技术	321
三、微阵列-比较基因组杂交技术	323
四、染色体原位杂交	325
五、基因表达分析技术	325
(一) 基因表达系列分析技术 (SAGE)	326
(二) RNase 保护试验 (RPA)	328
六、模式生物体研究	328
(一) 转基因动物	329
(二) 基因打靶技术	334
(三) 时空可调节性基因打靶技术	337
(四) 基因陷阱	338
(五) 诱变技术在功能基因组学中的应用	341
七、SNP、EST 在研究新 (未知) 基因中的应用	341
(一) 单核苷酸多态性 (SNP)	341
(二) 表达序列标签 (EST)	343
第十二章 蛋白质组学技术	345
第一节 概述	345
一、蛋白质组学研究的意义和背景	345
二、蛋白质组学研究的特点	346
第二节 蛋白质组学研究的技术体系与路线	350
一、蛋白质组分离技术	350
(一) 双向凝胶电泳的特点	350