



生命科学实验指南系列



精编分子生物学 实验指南

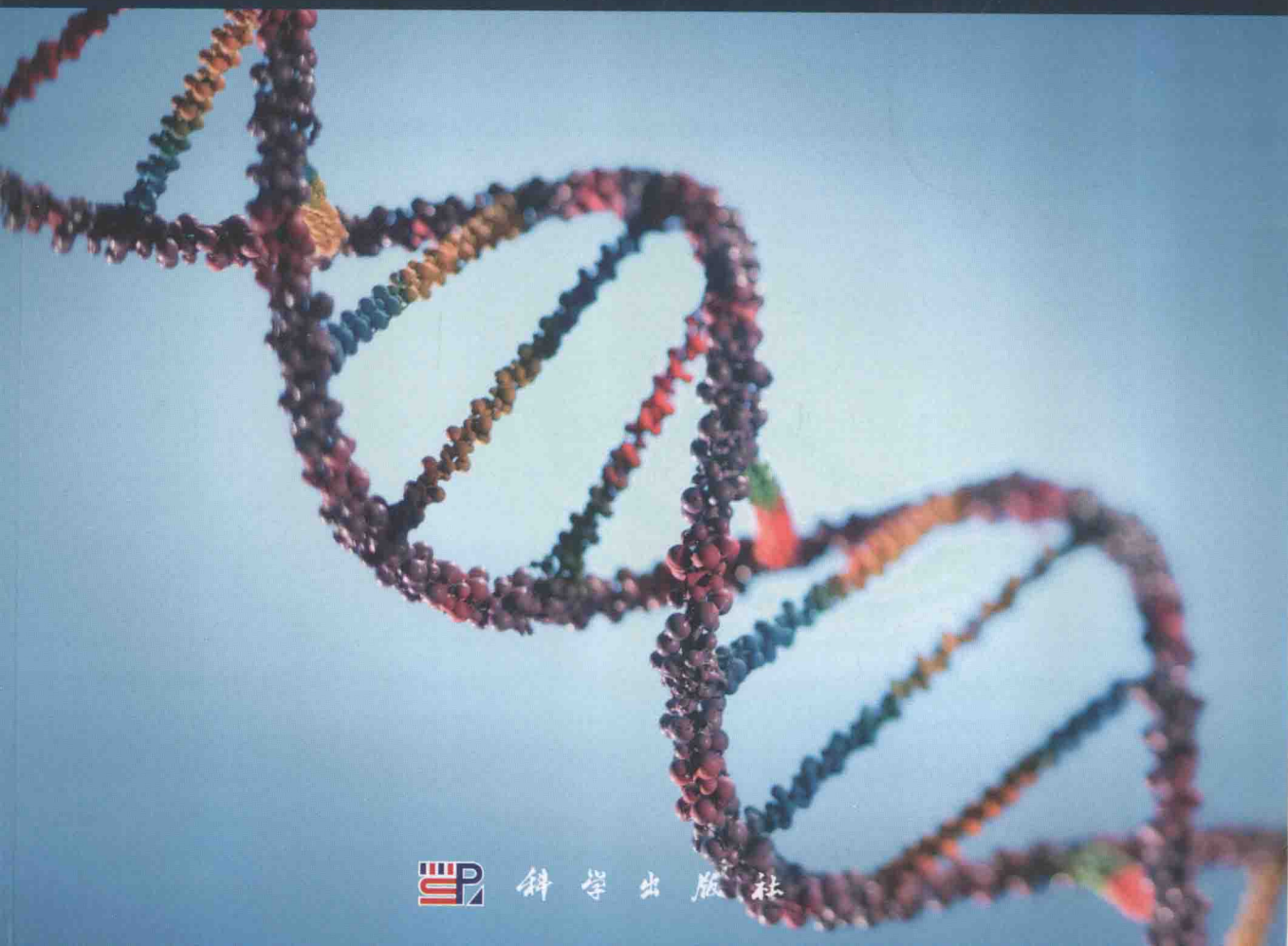
(第五版)

[美]

F. M. 奥斯伯 R. 布伦特 R. E. 金斯顿 D. D. 穆尔
J. G. 塞德曼 J. A. 史密斯 K. 斯特拉尔

主编

金由辛 包慧中 赵丽云 等 译校



科学出版社

生命科学实验指南系列·典藏版

精编分子生物学实验指南

(第五版)

[美] F. M. 奥斯伯 R. 布伦特 R. E. 金斯顿 D. D. 穆尔 主编
J. G. 塞德曼 J. A. 史密斯 K. 斯特拉尔

金由辛 包慧中 赵丽云 等 译校

科学出版社

北京

图字: 01-2003-7127 号

内 容 简 介

“生命科学实验指南系列”图书均出自名家,包括众多从 Cold Spring Harbor Laboratory Press 和 John Wiley & Sons 等国际知名出版社引进的实验室必备工具书,是生命科学领域最先进、实用、权威的实验手册类优秀图书。该系列图书简单明了,囊括了全世界最著名的生物类实验室操作方法,无论是初学者还是需要深入研究的科研工作者都能从中获益。该系列图书在读者群中有较高的知名度和美誉度,特别是以《分子克隆实验指南》和《精编分子生物学实验指南》为代表,堪称经典,分别被喻为生命科学领域的“蓝宝书”和“红宝书”。现挑选其中的精品集结成典藏版。

书名原文: Short Protocols in Molecular Biology, 5th ed.

Copyright ©2002 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

生命科学实验指南系列: 典藏版/雷东锋等编著. —北京: 科学出版社, 2016

ISBN 978-7-03-047486-5

I. ①生… II. ①雷… III. ①生命科学—实验—指南 IV. ①Q1-0

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 043878 号

责任编辑: 王 静 李 悦

责任印制: 张 伟 / 封面设计: 刘新新

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>

北京厚诚则铭印刷科技有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2016 年 7 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2016 年 7 月第一次印刷 印张: 1310 1/2

字数: 31 074 000

定价: 4500.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

参加翻译人员

(排名不分先后)

包慧中	陈祥龙	郭立涛	黄冰	金由辛
李伟	李洋	秦文明	秦越	史毅
王佳佳	王文馨	吴金勇	姚成果	张艳荣
赵波涛	赵丽云			

附：原书第四版参加翻译人员

(排名不分先后)

马学军	舒跃龙	颜子颖	王海林	金冬雁
李武平	李启明	周蕊	匡治洲	郑丽舒
孙梅生	段招军	谢志萍	王刚	张成海
衣作安	吴小兵	李亚洲	周圆	蒋立新
王晓丹	伍志坚	董小岩	魏博	

参编人员

Susan M. Abmayr
Pennsylvania State University
University Park, Pennsylvania

Lonnie D. Adams
The Upjohn Company
Kalamazoo, Michigan

Lisa M. Albright
Allison Park, Pennsylvania

Anthony T. Annunziato
Boston College
Chestnut Hill, Massachusetts

Oscar M. Aparicio
University of Southern California
Los Angeles, California

Alejandro Aruffo
Bristol-Myers Squibb
Princeton, New Jersey

Frederick M. Ausubel
Massachusetts General Hospital
& Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Omar Bagasra
Thomas Jefferson University
Philadelphia, Pennsylvania

Jim Bahre
Fuji Medical Systems, USA
Stamford, Connecticut

Albert S. Baldwin, Jr.
University of North Carolina
Chapel Hill, North Carolina

Cynthia Bamdad
Clinical Micro Sensors
Pasadena, California

Daniel M. Becker
Pennie & Edwards
Menlo Park, California

Sabine D. Bell
University of Texas
Austin, Texas

Timothy P. Bender
University of Virginia
Charlottesville, Virginia

Claude Besmond
Hôpital Robert Debré
Paris, France

Stephen M. Beverley
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Michael Bittner
National Human Genome
Research Institute, NIH
Bethesda, Maryland

Seth Blackshaw
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Kenneth D. Bloch
Massachusetts General Hospital
Charlestown, Massachusetts

Juan S. Bonifacio
National Institute of Child Health
& Human Development
Bethesda, Maryland

Ann Boyle
Current Protocols
Madison, Connecticut

Reinhard I. Boysen
Monash University
Victoria, Australia

Allan R. Brasier
University of Texas
Galveston, Texas

Michael Brenowitz
Albert Einstein College
Bronx, New York

Roger Brent
The Molecular Sciences Institute
Berkeley, California

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

Kim Budelier
Qiagen, Inc.
Chatsworth, California

Stephen Buratowski
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Dean Burgi
Genomix
Foster City, California

Michael C. Byrne
Genetics Institute
Cambridge, Massachusetts

Andrés E. Carrasceo
Buenos Aires Medical School
Buenos Aires, Argentina

Miles W. Carroll
Oxford BioMedica
Oxford, United Kingdom

A. Nigel Carter
The Salk Institute
La Jolla, California

Anthony Celeste
Genetics Institute
Cambridge, Massachusetts

Constance Cepko
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Claudia A. Chen
National Institute of Mental
Health
Bethesda, Maryland

Jin-Long Chen
Tularik, Inc.
South San Francisco, California

Jonathan D. Chesnut
Invitrogen Corporation
Carlsbad, California

Cheng-Ming Chiang
Case Western Reserve
University School of Medicine
Cleveland, Ohio

Lewis A. Chodosh
University of Pennsylvania
Philadelphia, Pennsylvania

Piotr Chomczynski
MRC
Cincinnati, Ohio

Joanne Chory
The Salk Institute for
Biological Studies
La Jolla, California

Valentina Ciccarone
Life Technologies, Inc.
Rockville, Maryland

Donald M. Coen Harvard Medical School Boston, Massachusetts	Nicholas C. Dracopoli Bristol-Myers Squibb Pennington, New Jersey	Achim Fischer BASF-LYNX Bioscience AG Heidelberg, Germany
Donald Coling University of California Berkeley Berkeley, California	Allan Duby Medical City Dallas, Texas	Maximillian T. Follettie Genetics Institute Cambridge, Massachusetts
Martine A. Collart CMU Geneva, Switzerland	Barbara Dunn GenPharm International Mountain View, California	John J. Fortin Tropix, Inc. Bedford, Massachusetts
James F. Collawn University of Alabama Birmingham, Alabama	Ben Dunn University of Florida Gainesville, Florida	Cecil H. Fox Molecular Histology Laboratory Gaithersburg, Maryland
Helen M. Cooper Ludwig Institute for Cancer Research Victoria, Australia	Patricia L. Earl National Institute of Allergy & Infectious Diseases Bethesda, Maryland	Verna Frasca Amersham Pharmacia Biotech Piscataway, New Jersey
Norman Cooper National Institute of Allergy & Infectious Diseases Bethesda, Maryland	Richard L. Eckert Case Western Reserve School of Medicine Cleveland, Ohio	Steven A. Fuller Univax Biologics Rockville, Maryland
Lynn M. Corcoran Walter & Eliza Hall Institute Victoria, Australia	Diane G. Edmondson M.D. Anderson Cancer Center Houston, Texas	Dimitri V. Fyodorov University of California, San Diego San Diego, California
Brendan Cormack Johns Hopkins University Medical School Baltimore, Maryland	Karen L. Elbing Clark and Elbing LLP Boston, Massachusetts	Sean R. Gallagher Ionian Technologies Upland, California
Michele Cottler-Fox University of Arkansas for Medical Sciences Little Rock, Arkansas	Elaine A. Elion Harvard Medical School Boston, Massachusetts	Subinay Ganguly SmithKline Beecham King of Prussia, Pennsylvania
Esteban C. Dell'Angelica National Institute of Child Health & Human Development Bethesda, Maryland	Andrew Ellington University of Texas Austin, Texas	Paul A. Garrity University of California, Los Angeles Los Angeles, California
Joseph DeRisi University of California, San Francisco San Francisco, California	Orna Elroy-Stein Tel Aviv University Tel Aviv, Israel	David H. Gelfand Roche Molecular Systems Alameda, California
Michael P. DiGiovanna Yale University School of Medicine New Haven, Connecticut	JoAnne Engebrecht State University of New York Stony Brook, New York	C. Ronald Geyer University of Florida Gainesville, Florida
Robert L. Dorit Yale University New Haven, Connecticut	Michael J. Eveleigh ADI Diagnostics Rexdale, Ontario	Michael Gilman Cold Spring Harbor Laboratory Cold Spring Harbor, New York
David Dorris Harvard Medical School Boston, Massachusetts	Rhonda Feinbaum Massachusetts General Hospital Boston, Massachusetts	Arthur Glatfelter National Human Genome Research Institute, NIH Bethesda, Maryland
Dennis Dowhan Baylor College of Medicine Houston, Texas	Russell L. Finley, Jr. Wayne State University School of Medicine Detroit, Michigan	Erica A. Golemis Fox Chase Cancer Center Philadelphia, Pennsylvania
	Michael Finney MJ Research Watertown, Massachusetts	Chris Gooden National Human Genome Research Institute, NIH Bethesda, Maryland

Michael E. Greenberg Harvard Medical School Boston, Massachusetts	James P. Hoeffler Invitrogen Corporation Carlsbad, California	Mustak A. Kaderbhai University College of Wales Dyfed, United Kingdom
John M. Greene Gene Logic Gaithersburg, Maryland	Charles S. Hoffman Boston College Chestnut Hill, Massachusetts	James T. Kadonaga University of California San Diego La Jolla, California
David Greenstein Vanderbilt University School of Medicine Nashville, Tennessee	Diane Hollenbaugh Bristol-Myers Squibb Seattle, Washington	Jason A. Kahana Ludwig Institute for Cancer Research La Jolla, California
Stefan Grünwald Pharmingen San Diego, California	Shelley B. Hoover Molecular Histology Laboratory Gaithersburg, Maryland	Steven R. Kain Clontech Laboratories Palo Alto, California
Tod Gulick Massachusetts General Hospital Charleston, Massachusetts	Peter Hornbeck University of Maryland Baltimore, Maryland	Randal J. Kaufman University of Michigan Ann Arbor, Michigan
Jeno Gyuris Mitotix, Inc. Cambridge, Massachusetts	Tony Hunter The Salk Institute for Biological Studies La Jolla, California	Ning Ke Iowa State University Ames, Iowa
Lars Hagel Amersham Pharmacia Biotech Uppsala, Sweden	John G.R. Hurrell FluorRx Carmel, Indiana	Marie Keaveney Harvard Medical School Boston, Massachusetts
John Hanson MJ Research Watertown, Massachusetts	Charles B-C. Hwang SUNY Health and Science Center Syracuse, New York	Anthony D. Keefe Massachusetts General Hospital Boston, Massachusetts
Anna G. Haramis European Molecular Biology Laboratory Heidelberg, Germany	Nina Irwin Cambridge, Massachusetts	Leslie A. Kerrigan OSIRIS Therapeutics Baltimore, Maryland
Grant Hartzog Harvard Medical School Boston, Massachusetts	Kenneth A. Jacobs Genetics Institute Cambridge, Massachusetts	Jae Bum Kim Harvard Medical School Boston, Massachusetts
Pamela Hawley-Nelson Life Technologies, Inc. Rockville, Maryland	Yuan Jiang National Human Genome Research Institute, NIH Bethesda, Maryland	Robert E. Kingston Massachusetts General Hospital & Harvard Medical School Boston, Massachusetts
Milton T. W. Hearn Monash University Victoria, Australia	Stephen Albert Johnston University of Texas Southwestern Medical Center Dallas, Texas	Carol M. Kissinger Millipore Burlington, Massachusetts
Joseph S. Heilig University of Colorado Boulder, Colorado	Bryan Jones Bristol-Myers Squibb Seattle, Washington	Lloyd B. Klickstein Brigham and Women's Hospital Boston, Massachusetts
Peter Heinrich Consortium für Elektrochemische Industrie Munich, Germany	Jingyue Ju Incyte Pharmaceuticals Palo Alto, California	Joan H.M. Knoll Harvard Medical School Boston, Massachusetts
William J. Henzel Genentech, Inc. South San Francisco, California	Bechara Kachar National Institute on Deafness and Other Communication Disorders Bethesda, Maryland	Mikhail G. Kolonin Wayne State University School of Medicine Detroit, Michigan
David E. Hill Applied Biotechnology Cambridge, Massachusetts		Martha F. Kramer Harvard Medical School Boston, Massachusetts

Anuj Kumar
Yale University
New Haven, Connecticut

David M. Kurnit
University of Michigan
Medical Center
Ann Arbor, Michigan

Edward R. LaVallie
Genetics Institute
Cambridge, Massachusetts

Kyu-Min Lee
Massachusetts General Hospital
Boston, Massachusetts

Michael Lenardo
National Institute of Allergy &
Infectious Diseases
Bethesda, Maryland

Mark E. Leverstein
University of California at San Diego
San Diego, California

Peng Liang
Vanderbilt-Ingram Cancer Center
Nashville, Tennessee

Peter Lichter
Deutsches Krebsforschungs-
zentrum
Heidelberg, Germany

Peter Linsley
Bristol-Myers Squibb
Seattle, Washington

John Lueders
National Human Genome
Research Institute, NIH
Bethesda, Maryland

Victoria Lundblad
Baylor College of Medicine
Houston, Texas

Thomas L. Madden
National Center for
Biotechnology Information
Bethesda, Maryland

Chris S. Martin
Tropix, Inc.
Bedford, Massachusetts

David Martin
National Institute of Allergy &
Infectious Diseases
Bethesda, Maryland

John M. McCoy
Genetics Institute
Cambridge, Massachusetts

Jill Meisenhelder
The Salk Institute
La Jolla, California

David D. Moore
Baylor College of Medicine
Houston, Texas

Malcolm Moos, Jr.
Center for Biologics Evaluation
& Research
Food and Drug Administration
Bethesda, Maryland

Zarnik Moqtaderi
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Richard Mortensen
University of Michigan
Medical Center
Ann Arbor, Michigan

Bernard Moss
National Institute of Allergy &
Infectious Diseases
Bethesda, Maryland

Paul R. Mueller
California Institute of
Technology
Pasadena, California

Cheryl Isaac Murphy
Oncor Med
Gaithersburg, Maryland

Robert J. Nelson
Molecular Dynamics
Sunnyvale, California

B. Tracy Nixon
Pennsylvania State University
University Park, Pennsylvania

Marjorie Oettinger
Massachusetts General Hospital
Boston, Massachusetts

Osamu Ohara
Kazusa DNA Research Institute
Chiba, Japan

Hiroto Okayama
University of Tokyo
Tokyo, Japan

Salvatore Oliviero
University degli Studi di Siena
Siena, Italy

Arthur B. Pardee
Dana Farber Cancer Institute
Boston, Massachusetts

Mukesh Patel
Whitehead Institute for
Biomedical Research
Cambridge, Massachusetts

Yvonne Paterson
University of Pennsylvania
Philadelphia, Pennsylvania

Warren Pear
Institute for Medicine and
Engineering
Philadelphia, Pennsylvania

Fred A. Pereira
Baylor College of Medicine
Houston, Texas

Heather Perry-O'Keefe
Perceptive Biosystems
Framingham, Massachusetts

Kevin J. Petty
Merck
West Point, Pennsylvania

Mary C. Phelan
T.C. Thompson Children's Hospital
Chattanooga, Tennessee

Helen Piwnicka-Worms
Washington University School
of Medicine
St. Louis, Missouri

Jack D. Pollard, Jr.
Mintz Levin Cohn Glovsky
Ferris and Popeo
Boston, Massachusetts

Roy M. Pollock
Ariad Pharmaceuticals, Inc.
Cambridge, Massachusetts

Kornelia Polyak
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Roger Pomerantz
Thomas Jefferson University
Philadelphia, Pennsylvania

Huntington Potter
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Thomas Quertermous
Massachusetts General Hospital
Boston, Massachusetts

Elisabeth Raleigh
New England Biolabs
Beverly, Massachusetts

K.J. Reddy
State University of New York
Binghamton, New York

Mark Reichardt
Lakeside Biotechnology
Chicago, Illinois

Ann Reynolds
University of Washington
Seattle, Washington

Randall K. Ribaud
National Cancer Institute
Bethesda, Maryland

Eric J. Richards
Washington University
St. Louis, Missouri

Paul Riggs
New England Biolabs
Beverly, Massachusetts

Phil Robakiewicz
Worcester Polytechnic Institute
Worcester, Massachusetts

Melissa Rogers
University of South Florida
Tampa, Florida

Sharon Rogers
Lakeside Biotechnology
Chicago, Illinois

William G. Romanow
Corning Costar
Portsmouth, New Hampshire

Sharon Y. Roth
M.D. Anderson Cancer Center
Houston, Texas

Robert R. Roussel
Fort Meade, Maryland

Colleen A. Ryan
Boston College
Chestnut Hill, Massachusetts

Elizabeth F. Ryder
Worcester Polytechnic Institute
Worcester, Massachusetts

Nicoletta Sacchi
Johns Hopkins University
Baltimore, Maryland

Brad St. Croix
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Thomas P. St. John
ICOS Corporation
Bothwell, Washington

Joachim Sasse
Shriners Hospital for Crippled
Children
Tampa, Florida

Stephen J. Scharf
Cetus Corporation
Emeryville, California

David G. Schatz
Howard Hughes Medical
Institute & Yale University
School of Medicine
New Haven, Connecticut

Paul Schendel
Genetics Institute
Cambridge, Massachusetts

Gavin R. Schnitzler
Tufts University School of
Medicine
Boston, Massachusetts

Joachim Schorr
Diagen GmbH
Hilden, Germany

R.K. Scopes
La Trobe University
Bundoora, Australia

Brian Seed
Massachusetts General Hospital
& Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Bartholomew M. Sefton
The Salk Institute
San Diego, California

Christine E. Seidman
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

J.G. Seidman
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Kentaro Semba
University of Tokyo
Tokyo, Japan

Donald Senear
University of California
Irvine, California

Ilya Serebriiskii
Fox Chase Cancer Center
Philadelphia, Pennsylvania

Thikkavarapu Seshamma
Thomas Jefferson University
Philadelphia, Pennsylvania

Raj Shankarappa
University of Washington
School of Medicine
Seattle, Washington

Jen Sheen
Massachusetts General Hospital
& Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Shirish Shenolikar
Duke University Medical Center
Durham, North Carolina

L.A. Sherman
Purdue University
West Lafayette, Indiana

Penny Shockett
Yale University School
of Medicine
New Haven, Connecticut

Pam A. Silver
Dana-Farber Cancer Institute
Boston, Massachusetts

Michael H. Simonian
Beckman-Coulter, Inc.
Fullerton, California

Harinder Singh
University of Chicago
Chicago, Illinois

Hazel Sive
Whitehead Institute for
Biomedical Research
Cambridge, Massachusetts

Barton E. Slatko
New England Biolabs
Beverly, Massachusetts

Alan J. Smith
Stanford University Medical
Center
Stanford, California

Carolyn L. Smith
National Institute of
Neurological Disorders
and Stroke
Bethesda, Maryland

Donald B. Smith
University of Edinburgh
Edinburgh, Scotland

John A. Smith
University of Alabama
Birmingham, Alabama

Michael Snyder
Yale University
New Haven, Connecticut

Timothy A. Springer
Center for Blood Research
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Patrick Stanssens
Keygene N.V.
The Netherlands

David F. Stern
Yale University School
of Medicine
New Haven, Connecticut

Julie M. Stone
Massachusetts General Hospital
Boston, Massachusetts

William M. Strauss
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Kevin Struhl
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

John T. Stults
Genentech, Inc.
South San Francisco, California

Cynthia Sung
Bioengineering and Physical
Science Program/NIH
Bethesda, Maryland

Jonathan C. Swaffield
University of Texas Southwestern
Medical Center
Dallas, Texas

Stanley Tabor
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Miyoko Takahashi
Spectral Diagnostics, Inc.
Toronto, Ontario

Douglas A. Treco
TKT, Inc.
Cambridge, Massachusetts

Steven J. Triezenberg
Michigan State University
East Lansing, Michigan

Peter van der Geer
University of California, San
Diego
La Jolla, California

Baruch Velan
Israel Institute of Biological
Research
Ness Ziona, Israel

Pieter Vos
Keygene N.V.
The Netherlands

Daniel Voytas
Iowa State University
Ames, Iowa

Simon Watkins
University of Pittsburgh
Medical School
Pittsburgh, Pennsylvania

John H. Weis
University of Utah School of
Medicine
Salt Lake City, Utah

Maryann Z. Whitley
Genetics Institute
Cambridge, Massachusetts

Alan Williams
Amersham Pharmacia Biotech
Piscataway, New Jersey

David S. Wilson
Zyomyx
Hayward, California

Kate Wilson
Australian Institute of
Marine Science
Townsville, Australia

Fred Winston
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Scott E. Winston
Univax Biologics
Rockville, Maryland

C. Richard Wobbe
Merk, Sharp & Dohme Research Lab
Rahway, New Jersey

Barbara Wold
California Institute of
Technology
Pasadena, California

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

Jerry L. Workman
Pennsylvania State University
University Park, Pennsylvania

Shwu-Yuan Wu
Case Western Reserve
University School of Medicine
Cleveland, Ohio

Linda S. Wyatt
National Institute of Allergy
& Infectious Diseases
Bethesda, Maryland

Wayne M. Yokoyama
Washington University School of
Medicine
St. Louis, Missouri

Ken Zarat
Brown University
Providence, Rhode Island

Rolf Zeller
University of Utrecht
The Netherlands

Ning Zhang
Tularik, Inc.
South San Francisco, California

Heng Zhou
Harvard Medical School
Boston, Massachusetts

Lou Zumstein
Invitrogen Therapeutics
Houston, Texas

译者序

20 世纪 80 年代初, 当时的中国科学院上海生物化学研究所祁国荣研究员 (时任该所核糖核酸研究室副主任, 室主任为王德宝院士), 第一个从国外带回了 *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 一书。该书通过上海生物化学研究所和中国生物化学学会传遍了中国生化与分子生物学界, 大大促进了我国生化与分子生物学的学科发展。

80 年代后期起, 该书有多种中文译本出版。其中由病毒基因工程国家重点实验室金冬雁博士、黎孟枫博士主译的《分子克隆实验指南》第二版自 1992 年发行以来已成为我国生命科学领域最畅销的图书之一, 对我国生物技术的普及和提高发挥了十分重要的作用。

由病毒基因工程国家重点实验室颜子颖博士、王海林博士主译, 金冬雁博士统校的《精编分子生物学实验指南》(*Short Protocols in Molecular Biology*, Fredrick M. Ausubel 等主编) 第三版自 1998 年发行以来也已成为我国分子生物学技术领域深受欢迎的另一本参考书。

2004 年底, 由病毒基因工程国家重点实验室马学军博士、舒跃龙博士主持, 在上一版的基础上, 《精编分子生物学实验指南》第四版被译出, 由科学出版社出版发行。

2006 年夏, 我正在美国访问期间, 接到科学出版社马学海先生的电子邮件, 询问我能否组织《精编分子生物学实验指南》第五版的翻译。当时我正在主持 *RNA Methodology* 一书的翻译 (该书于 2007 年由化学工业出版社出版)。因此直到 2006 年冬季, *RNA Methodology* 的翻译已开始最后一遍校对时, 我才接受了本书的翻译工作。

新版的内容覆盖了当今分子生物学的主要技术, 它和《分子克隆实验指南》被西方学者并称为现代生物科学技术的“圣经”。《精编分子生物学实验指南》第五版全书共 23 章, 除保留了第四版的内容外, 增加了四章全新内容 (第 20 章染色质的装配与分析; 第 21 章核酸阵列; 第 22 章组合文库的建立和使用; 第 23 章单个细胞或一群细胞间差异表达基因的发现和分析)。此外部分章节还做了较大的删减和增改, 反映了分子生物学主要技术的最新进展。例如: 第 2 章新增了寡核苷酸的合成及纯化等; 第 3 章删减了用限制性内切核酸酶部分消化及多酶消化进行 DNA 作图等; 第 4 章新增了新转录 RNA 的鉴定等; 第 6 章新增了用单克隆抗体表达克隆、用重组方法 (RBA) 筛选 λ 噬菌体文库等; 第 7 章新增了小量制备用于化学测序的重组质粒 DNA、化学测序法等, 删减了 DNA 和蛋白质序列的计算机处理和分析等; 第 8 章新增了 PCR 介导的随机突变等, 删减了无需表型选择的寡核苷酸的诱变及区域特异性诱变等; 第 9 章新增了阳离子脂质体介导的真核细胞转染、用维多利亚水母绿色荧光蛋白 (GFP) 研究体内蛋白动力学等, 删减了脂质体介导的转染等; 第 10 章新增了定量氨基酸的分析, “多肽和蛋白质的 HPLC” 中的准备工作、系统组装及标准操作条件, 蛋白质和多肽的毛细管电泳等; 第 11 章增加了老鼠的免疫、多克隆抗血清的制备等, 删减了兔多克隆抗血清的制备等; 第 13 章新增了酵母菌基因组转座子的诱变, 以及斜面的制备与接种, 邮寄和复

苏细胞等；第 14 章新增了 RNA 在脊椎动物的胚胎和器官中的整体标本原位杂交和检测，荧光显微镜的原理及使用，共聚焦显微术基本原理，原位杂交检测，细胞凋亡形态的生化性质和流式细胞仪检测， β -半乳糖苷酶活性的整体封片免疫组化检测等；第 16 章新增了从哺乳动物细胞中表达和纯化抗原决定簇标记的多亚基蛋白复合体等，删减了麦芽糖结合蛋白融合蛋白的表达及纯化等；第 17 章新增了特异性识别酪氨酸磷酸化肽的抗体的制备，磷酸肽图谱和磷酸化位点的鉴定等；第 19 章新增了表面等离子共振技术，用共沉淀法检测蛋白质-蛋白质之间的相互作用，用 Far Western 分析识别蛋白质相互作用等。在第五版的附录部分新增了凝胶和印迹实验中放射性标记蛋白质和 DNA 的检测及定量（附录 3A）；删减了放射自显影；附录 3D 中新增了用 DNA 结合荧光染料 Hoechst33258 检测 DNA，以及用溴化乙锭荧光检测 DNA 和 RNA。

很高兴在德国获得博士学位并有多年海外工作经验的赵丽云女士于 2007 年仲春加盟我实验室，参加了本书的校对工作。我妻子包慧中女士是我大学和研究生时期的同学。她从生物高技术公司副总工程师、开发部主任位置上退休后，就一直在我实验室工作。她们两人为本书投入了大量的精力。其他参与本书翻译的人员有本实验室的史毅、陈祥龙、郭立涛、赵波涛四位博士，我的五位博士研究生以及在我实验室工作的其他单位的硕士生、博士生。希望本书的出版发行将一如既往地有助于我国分子生物学技术的进一步发展和提高。

金由辛

二零零七年十二月十日于上海

中国科学院上海生命科学研究院

生物化学与细胞生物学研究所分子生物学国家重点实验室

前言

分子生物学已经发展成熟，并且实验研究已经进展到如此状态——以前特殊的实验程序，现在已成为常规操作——因此，《精编分子生物学实验指南》(*Short Protocols in Molecular Biology*，以下简称《精编》)的范围和概念也在不断改变。某些内容一度被认为对一般的读者显得过于复杂，如组合化学或染色质装配和分析，现在已被有规律地应用。基于这样的思考，我们增加了新的章节，并扩展了《精编》原有主题下的内容。

与前面的版本一样，两卷本的《精编分子生物学实验指南》第五版是已出版的《最新分子生物学实验方法汇编》(*Current Protocols in Molecular Biology*，以下简称《汇编》)一书中的实验方法的简编版本。它由《汇编》的核心手册和每季度更新的服务手册中提炼而来，涵盖了《汇编》中所有基本方法及其详细实验步骤。本书拟作为实验室手册使用，对象是那些熟悉《汇编》中各种详细解释的研究生和博士后人员，然而，在本书中对实验方法有详细的步骤说明，有经验的研究人员也可将本书作为独立的实验室操作指南。

虽然熟练掌握本书中的技术方法可使读者进行分子生物学和相关学科研究，但本书并不适用于替代研究生水平的分子生物学教材或作为这一领域的综合性读本。另外，我们推荐读者在使用本书时要对照参考《汇编》中的评述和详细注释。最后，我们极力要求读者通过在分子生物学实验室中的工作获得关于基本技术和实验室安全操作规程的第一手经验。

如何使用这本书

结构

本书按章编排，每种实验方案均可从各节中获得。每一节中列出材料、实验方案的步骤和每种技术的参考文献。在附录 5 中囊括了整本书全部的参考文献。本书的排列和结构与《汇编》基本一致。尽管各节的编号可能不完全相对应，但各节的标题在两个版本中是相同的。因此，拥有两种版本的使用者当需要更详细的解释时会发现对照参考《汇编》十分容易和便利。

在整本书中，许多试剂和实验程序被反复应用，不过我们并不是反复复制这些信息，而是在章节之间广泛地进行对照参考。书中前面各章（和附录 3）主要介绍常用的技术方法，如基本微生物学和酶、DNA、RNA 的基本操作方法，而后面的各章介绍的是更先进的技术方法。因此，在一种方案中无论什么时候用到某一特定的酶，均可对照参考第 3 章中适当的节，找到介绍该酶反应条件的内容（如 3.5 介绍逆转录酶）。同样，在整本书中读者可参照 1.3 铺平板或在平板上划线；参照 2.1 进行酚抽提和乙醇沉淀；参照 2.6 进行琼脂糖凝胶电泳等。因此，在本书的后面章节所介绍的方案中就省略了制备、纯化和分析样品或目的分子的辅助程序。

附录提供了试剂和溶液的配方（附录 1），有用的测量值和数据（附录 2），常用的生物化学实验技术（附录 3），供应商的名称和地址（附录 4）。

方案

许多节中都含有几组方案。在每个节中首先出现的是基本方案，它一般也是首选的实验方法。备择方案在以下情况下使用：①使用不同的仪器或试剂可得到相似的结果；②起始材料需要方法有所改变；③对最终产物的要求与基本方案不同。辅助方案介绍了基本方案和备择方案所需的附加步骤。这些步骤之所以从核心方案中单列出来，是因为它们可能在本书中具有其他用途，或操作时与基本方案各步骤在时间上可以分开。

试剂与溶液

实验步骤开始之前，材料栏中列出了一个方案中所需要的各种试剂。除培养基和限制性内切核酸酶反应缓冲液配方外，相应的配方都在附录 1 中列出，并在括号中列出了这些配方的出处。尤其要注意这些特殊溶液中有些溶液的名称在一个节与另一个节中可能是相似的（如杂交液、裂解缓冲液等），但配方却不同；因此，在按适当的配方配制试剂时要仔细确认。为了避免混淆，在附录 1 中紧接每个试剂名称的括号内列出了使用每个配方的节序数，但常用缓冲液和溶液除外，如 TE 缓冲液、PBS。

【注】本书中实验方案中所使用的，以及所有试剂和溶液制备所使用的水，均应为去离子蒸馏水。

仪器

现代分子生物学实验室中标准仪器及相关用品在本文后列出，并在本书中广泛采用。在每个方案之前的材料栏中仅包括“特殊”仪器，即在实验室不易备有的或需要特殊制备的仪器。

供应商

在本书的某些实验中，我们推荐一些化学试剂、生物材料或实验仪器的供应商。但我们尽量避免这种做法，因为对某种品牌的喜好是主观的，而且一般并无广泛比较试验的基础。对所推荐的供应商，我们的原则是：这种特殊品牌实际上已被证实具有出众的品质；或者，这种材料在市场上很难找到。附录 4 列出了推荐的供应商的名称、地址和电话号码，但它们并非唯一的生物试剂供应商。读者也可使用自己喜好的品牌进行实验。

安全考虑

任何一个按这些方案进行实验的研究者都将操作以下有害材料：①放射性物质；②有毒化学物质和致癌或致畸试剂；③致病或具感染性的生物因子；④重组 DNA。使用这些材料时必须严格遵守地方和国家条例。本书对许多操作有害材料的情形都作了警示，但我们强调使用者应具有较好的实验室实践经验，在操作有害材料时必须小心谨慎。

在每个方案的材料栏中也将一些特殊的仪器列了出来。在此,我们并未试图将每个实验过程所需的所有仪器一一列出,而是提及那些在实验室可能并未常备或需要特别准备的仪器。下面列出了现代分子生物学实验室应备的标准仪器,如本书中的常用仪器,而它们并未包括在各个材料栏中。

高压设备

天平 分析天平和制备天平

桌布 塑料布垫(包括“蓝色垫子”)

离心机 很多实验需要低速(20 000r/min)冷冻离心机和超速(20 000~80 000r/min)离心机。制备质粒DNA时,使用垂直超速离心转头十分方便。至少需要一台可离心1.5ml微量离心管的微型离心机。另外,还应有一台大容量、低速度的离心机用来收获大量的细菌培养液,以及一台带适配器的台式吊桶式离心机用来甩干96孔微量酶标板

计算机和打印机

暗室和显影罐或X-Omat自动X射线胶片显影仪

过滤装置 用于在硝酸纤维滤膜或其他膜上收集酸沉淀

分部收集器

冷冻和冷藏冰柜 用于4℃、-20℃和-70℃孵育或储存

通风橱

盖革氏计数器

干胶机

凝胶电泳装置 至少有一套可满足不同分子质量大小的水平电泳仪和一套小型水平电泳仪。对于从事大规模测序的研究人员,需要配备一套测序凝胶装置。一套用于聚丙烯酰胺蛋白质凝胶的垂直电泳仪,根据需要,配备一套用于双向蛋白质凝胶的专用电泳仪

加热块 由自动温度调节装置控制的、可插入试管和(或)微量离心管的金属加热块,可方便地用于酶反应实验

制冰机

恒温箱(37℃) 用于细菌培养。推荐采用可容纳组织培养转鼓的恒温箱,它可用于在标准的18mm×150mm试管中进行5ml培养液的培养。New Brunswick Scientific公司生产一种便利和可定时的试管转鼓

恒温箱/摇床 可振摇4L烧瓶的封闭式摇床(如New Brunswick的恒温摇床),对于培养1L的大肠杆菌培养液是必要的。旋转式水浴摇床(New Brunswick R76)有利于烧瓶中少量培养液的培养

灯箱 用于观看放射自显影胶片

液氮

磁力搅拌器(最好带加热功能)

微量离心机 Eppendorf型,最大转速为12 000~14 000r/min

微量离心管 1.5ml

微波炉 用于熔化琼脂和琼脂糖

研钵和研杵

裁纸刀 大号,可用来裁切大小46cm×57cm Whatman滤纸

pH计

pH试纸

移液器 适用于1~1000μl一次性吸头,每一位研究人员最好配备一套移液器

Polaroid照相机和UV透射仪 用于拍摄染色凝胶照片

刮细胞器 橡胶或塑料的

电源 300V电源用于凝胶电泳。2000V电源用于DNA测序

放射线保护屏(Lucite或Plexiglas)

放射性墨水

放射性废料收集箱 液体和固体废料

冰箱 4℃

防护眼罩

解剖刀和刀片

液体闪烁仪

封口机

摇床 定轨和平台,室温或37℃

分光光度计 UV和可见光

旋转真空蒸发器

热循环仪

组织培养箱 CO₂加湿培养箱、相差显微镜、液氮储存罐和层流罩

UV交联仪

UV光源 长波和短波

UV透射仪

真空干燥箱/冷冻干燥机

真空烤箱

涡旋混合器

水浴箱 至少两台可调温至80℃

纯水仪 或玻璃蒸馏装置,纯化用于分子生物学实验的水

感 谢

John Wiley & Sons 公司最新方案部职员，为我们组合这些方案提供了所需要的支持和帮助。在这些帮助我们的人员中，我们特别感谢 Kathy Morgan、Beth Harkins、Scott Holmes、Davide R. Dickson、Katie Stence 和 Virginia Chanda。我们特别感谢我们的合作者，他们为本书提供材料、各章的注释或实地测试这些程序。对这些在我们自己的实验室及全世界的科学和工业实验室的人员，我们深表谢意。

Frederick M. Ausubel	Roger Brent
Robert E. Kingston	David D. Moore
J. G. Seidman	John A. Smith
Kevin Struhl	