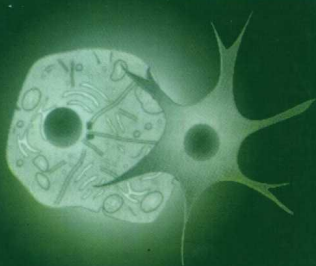
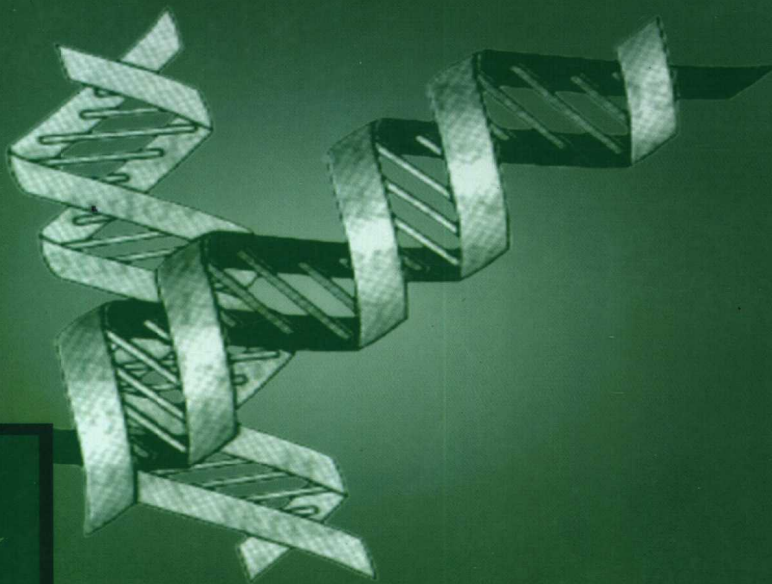


“十五”国家重点图书

现代生物技术丛书

基因工程

陆德如 编著
陈永青



化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

“十五”国家重点图书

现代生物技术丛书

基因工程

陆德如 陈永青 等编著

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

基因工程/陆德如, 陈永青等编著. —北京: 化学工业出版社,
2002.7

(现代生物技术丛书)

ISBN 7-5025-3821-6

I. 基… II. ①陆…②陈… III. 基因-遗传工程 IV. Q78

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2002) 第 027642 号

现代生物技术丛书

基 因 工 程

陆德如 陈永青 等编著

责任编辑: 叶 露 周 旭

责任校对: 李 林

封面设计: 于 兵

*

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

北京市昌平振南印刷厂印刷

三河市延风装订厂装订

开本 787×1092 毫米 1/16 印张 16¼ 字数 386 千字

2002 年 7 月第 1 版 2002 年 7 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-3821-6/Q·19

定 价: 30.00 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

“现代生物技术丛书”编委会名单

编委会主任 焦瑞身

编委会成员 (以姓氏汉语拼音为序)

郭礼和 中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所 研究员
贾士荣 中国农业科学院生物技术中心 研究员
焦瑞身 中国科学院上海植物生理生态研究所 研究员
伦世仪 江南大学 中国工程院院士 教授
俞俊棠 华东理工大学 教授
张树政 中国科学院微生物研究所 中国科学院院士 研究员
朱宝泉 上海医药工业研究院 研究员

本册主编与编写人员

主 编 陆德如 陈永青

编 写 人 员 (以姓氏汉语拼音为序)

柴建华 复旦大学遗传学研究所 教授
陈 坚 第二军医大学卫生勤务系 博士
陈永青 复旦大学生命科学学院 教授
郭礼和 中国科学院生化与细胞生物学研究所 研究员
胡以平 第二军医大学基础部 教授
黄 芳 中国科学院生化与细胞生物学研究所 博士
季朝能 复旦大学遗传学研究所 博士
李险峰 复旦大学遗传学研究所 博士
李 瑶 复旦大学遗传学研究所 博士
陆德如 第二军医大学 教授
明 凤 复旦大学遗传学研究所 博士后
曲志才 复旦大学遗传学研究所 教授
万 敏 复旦大学遗传学研究所 博士
王易伦 第二军医大学基础部 教授
谢建平 复旦大学生命科学学院微生物系 博士
徐人尔 复旦大学遗传学研究所 博士
朱鹏程 复旦大学遗传学研究所 博士
皆晓渊 第二军医大学基础部 博士

序

建立在分子生物学、分子遗传学、生物化学、微生物学、细胞学以及化工、计算技术等基础之上的现代生物技术(生物工程),是20世纪后半期国际上突飞猛进的技术领域之一,它为人类保健、农牧业、食品工业、环境保护以及精细化工等产业的发展提供了前所未有的动力。展望新世纪,可以预料生物技术的前景更为光辉灿烂。本丛书将就该领域的研究动态逐个进行详细介绍,这里我们仅概述其突出进展与读者分享。鉴于各领域发展迅速和编者水平有限,丛书定有遗漏和不足之处,敬请读者指正。

一、基因组和后基因组学

人类基因组计划(HGP)正式启动于1990年,这是一个跨世纪、跨国界的最伟大的生命科学工程,经美、英、法、德、日、中6国的合作和努力,已于2001年完成全部序列测定。这一成就可以与原子弹计划和登月计划相媲美。它将对生命科学和人类健康产生巨大影响。应用各种技术,上千个与疾病相关的基因已被定位,并有近百个疾病基因被克隆。毫无疑问,这将为新药研究设计和疫苗制备提供依据,且已有多个物质进入临床试验。

与此同时,小家鼠、果蝇、线虫、拟南芥、水稻、啤酒酵母,以及多种真菌、细菌的基因组研究相继开展,其中拟南芥基因组的全序列测定业已完成。由于微生物的基因组远小于多细胞真核生物,且细菌和酵母基因中不存在内含子,因而便于分析,迄今已在酵母基因组中发现了一些与人类疾病基因同源的基因,研究这些基因在酵母中的生理功能,将有助于了解相关疾病的发病机理。

今天,一个崭新的领域——生物信息学迅速发展,它将基因的结构、蛋白质功能以及物种的进化在基因信息的基础上统一起来。这一学科的发展,对基因组和后基因组学研究及对人类健康和农业发展将产生深远的影响。

二、基因工程(重组DNA技术)

体外DNA重组技术始于1972年,首先在大肠杆菌中获得成功,继而扩展到其他微生物,生产出了多种新型发酵产品。美国批准上市的基因工程产品有人类胰岛素、人类生长因子、白介素、干扰素、牛型生长激素疫苗等,并不断有新的品种进入临床应用。重组微生物的应用,也为高等生物作为表达外源基因的宿主提供了技术和经验,如哺乳动物细胞株、昆虫细胞株、转基因动物、转基因植物,都有可能作为生产需要糖基化的重组蛋白质的宿主。

我国基因工程研究起步较晚,自1986年“863”计划实施以来,生物技术药物的研究和产业化获得迅猛发展,至1998年已有14种基因工程药物、3个基因工程疫苗和数十个重组诊断试剂投放市场。

三、转基因作物及其他农业生物工程

农业生物技术中最重要的是转基因作物 (GMC)。近十年间 GMC 发展速度极快, 1996~2001 年全球 GMC 的种植面积增长了 30 倍。2000 年达 4 420 万公顷, 比 1999 年增长 11%, 2001 年又在 2000 年的基础上增长 19%, 达 5 260 万公顷。GMC 种植面积占相关作物全球种植面积的比例依次为: 大豆 46%、棉花 20%、油菜 11%、玉米 7%。

我国 GMC 的种植面积在 13 个国家中居第四位。国产转基因 Bt 抗虫棉的育成和推广, 开创了国内基因工程农业应用的成功范例, 仅 2001 年种植面积达 60 万公顷。抗虫棉的杀虫性强, 农药用量可减少 70%~80%, 既降低了用工成本, 又保护了环境。

继获得第一代 GMC (抗除草剂、抗虫、抗病等) 之后, 第二代转基因作物已呼之欲出, 重点是进一步改良作物品质, 提高其营养水平 (如“金稻米”等), 或以植物作为生物反应器生产医疗保健产品 (如口服疫苗等)。同时, 针对旱、涝、盐碱、低温等恶劣自然环境, 培育各类抗逆作物。

此外重组根瘤菌、重组联合固氮菌, 抗病杀虫重组微生物的开发和应用也取得了明显的成效。

四、克隆动物及转基因动物

动物体细胞克隆技术的发展为生产蛋白质类药物、器官移植、挽救珍稀濒危动物以及培育优良品种等奠定了基础。最近, Wilmut 等用山羊胚胎的核转入去核未受精的卵母细胞, 产生了克隆动物——Dolly 羊, 成为科学上的重大突破, 并在多种动物中得到重复。

转基因动物的成功引导了一种新型制药工业, 即利用转基因山羊、绵羊和乳牛的乳汁来生产治疗人类疾病的蛋白类药物。转基因动物发展的另一动向是克隆修饰的猪, 为人体器官移植提供外源器官, 以缓解临床上对人体器官的迫切需求。

体细胞克隆山羊在我国的上海市转基因研究中心及陕西的中国杨凌克隆动物基地都获得了成功。

五、细胞工程和组织工程

多年来我国植物组织培养和细胞工程研究在国际上是领先的。我国学者通过花药和花粉单细胞培养培育出烟草、水稻、小麦、大麦、油菜、甘蔗等作物的新品种、新品系, 种植面积逾 100 万公顷。脱病毒快速繁殖的主要作物有香蕉、马铃薯、甘蔗、木薯、香草兰、草莓、柑橘、苹果、葡萄、花卉和观赏植物。紫草、三七等植物细胞已可在发酵罐中大量培养。我国的传统中药涉及 5 000 种左右植物, 细胞培养是中药资源开发的一个重要方面。

我国学者在动物细胞工程方面也作出了重要贡献。例如亲缘关系远近不同的鱼类可进行各种核质组合, 在变种间、属间及科间都获得了具有独特性状的

核质重组鱼。

动物发育工程中另一重大进展是干细胞株的建立，这已成为国际上研究的热点。干细胞是指未充分分化、但具有再生为各种组织器官和个体潜在功能的细胞。血液干细胞能够分化、生成整个血液系统，用造血干细胞移植来治疗白血病和一些遗传血液病，是医学界正在探索的课题。最近，以色列科学家首次从胚胎干细胞培养出人类心脏组织，它可以正常跳动，并且有新生心脏组织的电特性和机械特性。波兰科学家用脐血干细胞成功地培育出了脑细胞，有可能被用于帕金森病、脑震荡等疾病的治疗和脑部损伤的修复。美国科学家最近成功地将胚胎干细胞分化成人类骨髓中的造血先驱细胞，并进一步培养成红血球、白血球和血小板。这些结果预示着人类有可能获得取之不尽的血源。我国科学家已成功地将干细胞体外培养成胃和肠黏膜组织，这是继利用干细胞原位培养皮肤组织全能修复之后，人类再生组织器官方面的又一重大成果。

六、环境生物工程

我国是环境污染较严重的国家，环境生物工程在防治各种污染中将起重要作用。众所周知，油轮海上倾油可引起大面积海域污染，国外虽采用“超级细菌”（含有多个降解烃类的质粒）进行海面浮油处理，但其效果尚有待改进。化学农药对土壤的污染虽可用具专一性降解能力的特种细菌处理，但作用也甚缓慢。相对而言，较为先进的方法是采用可被降解的生物农药。此外，河流、湖泊水域的污染防治、酸雨危害以及城市垃圾的处理等，也都是亟待解决的问题。

七、酶工程

酶工程是现代生物技术的重要组成部分，其特点是利用酶、含酶细胞器或细胞（微生物、植物、动物）作为生物催化剂来完成某些重要的化学反应。应用范围包括医药、食品、化学工业，诊断分析和生物传感器等。涉及的品种不少，诸如糖化酶、淀粉酶、洗涤用酶以及与 β -内酰胺抗生素生产有关的青霉素酰化酶、7-ACA酰化酶等，其市场需求、生产规模和产值均很可观，并已产生巨大的经济效益。随着酶的大量应用，各种酶反应器和固定化技术应运而生，更进一步地推动了酶工程的发展。

当代酶工程发展的趋势之一是寻找耐极端条件的酶，如耐高温、耐酸碱、耐盐等。这些酶存在于嗜高温、嗜酸碱、嗜高盐的细菌中。近年来对这些细菌的研究进展迅速，这将为酶工业提供源源不断的新型酶类。

八、新型能源和清洁能源的开拓

随着化石能源逐年减少，再生能源的研制开发已备受国际关注。虽然我国石油和煤炭储量丰富，但从长远考虑，还需对这一课题予以重视。展望未来，新型能源，特别是清洁能源的开发很有必要。

氢气是无污染的清洁能源，燃烧后不产生二氧化碳、硫、氮氧化物等有害物质，国外的燃氢汽车已研制成功。产氢的微生物甚多，值得重视的是光合细

菌，该菌可利用工业废水产氢，同时具有农用肥效的作用。

巴西和美国是燃料乙醇生产技术和商业应用比较成熟的国家。作物秸秆、废报纸等生物材料是生产再生能源的最廉价原料，所生产的燃料乙醇成本可低到每加仑 1.10 美元，虽然仍高于每加仑 0.80~0.90 美元的汽油批发价，但随着技术的改进，生产成本将会逐步降低。

九、新型生物传感器的研制

要研制新型生物传感器，需要新型的酶和生物材料，这些酶需能耐高温、酸、碱或低温。已发现的这类特殊生物材料有嗜盐细菌的紫膜，这是一种光敏材料，可转化光子为 ATP。另一个例子是磁细菌细胞中的微小磁石 (Fe_3O_4)，对细胞起导航作用。当代正竞相研制 DNA 芯片，以色列学者已用其建成简单的计算机。

生物传感器应用范围广泛，包括临床检测、免疫反应、反应罐过程检测、环保毒物检测等，不胜枚举。

十、生化工程

包括发酵工艺、过程检测与控制、反应模型建立、反应器的设计 and 应用，以及包括产品提取纯化、包装在内的下游加工工艺等方面，这是生物技术产业化的最后重要过程。

本丛书以应用生物技术为主，包括必要的基础知识和前景展望。丛书包括 15 个分册，即基因工程、蛋白质工程、酶工程、生物信息学、植物细胞工程、动物细胞工程、微生物工程、生物制药技术、高级生物传感器、环境生物工程、农业生物工程、糖生物工程、生物技术与疾病诊断——兼论基因治疗、组织工程、生物工程下游技术。

每册均由工作在第一线的专家撰写，概要阐述了国内外生物技术的进展和趋势。期望本丛书的出版能够对推动我国生物技术的研究开发及产业化作出微薄的贡献。

编者衷心寄语青年朋友，认识生物技术的光辉前景，祝愿你们以聪明才智为我国的生物技术作出创新贡献。

焦瑞军 曾士学

2002 年 1 月

前 言

如果说第一个重组 DNA 分子的出现标志着“基因工程”的诞生,那么自美国斯坦福大学 D.Berg 构建成世界上第一个重组 DNA 分子至今,基因工程已诞生 30 周年了。30 年来,基因工程取得了巨大的发展,它的发展带动了以其为核心的生物技术的发展,它的发展也促进了整个生命科学的发展。现在生命科学正在发生革命性的巨变,生物技术正在改变世界经济,有人预计 21 世纪生物技术有可能主导世界经济的发展。愈来愈多的人想了解 30 年来基因工程的发展,特别是近年来飞速发展的新技术和新应用,如基因组工程、转基因技术、基因芯片、复杂体系的克隆、人类基因组研究的进展等,迫切希望有一本简明而全面介绍这方面基本原理、方法和进展的书。我们在着手编写这本书时,检索了国际同类出版物的情况,发现自 1992 年 J.Watson 主编的“Recombinant DNA (重组 DNA)”第二版后,再也没有出现过类似书籍。基因工程技术参考书多半还是 20 世纪 80 年代的翻译本和部分技术与方法的单行本。为此,我们感到既能系统地阐明基因工程基础理论,又能详细地介绍基因工程技术新进展和新应用,基础理论与实用技术相结合,侧重于实用技术的新的现代生物技术丛书——基因工程尤其必要。为使本书具有前瞻性和指导性,本书主要由基因工程科研第一线的专家、教授和博士撰写:第一章陈永青,第二章曲志才,第三章徐人尔、万敏,第四章、第五章徐人尔、朱鹏程,第六章郭礼和、黄芳,第七章王易伦、陈永青,第八章谢建平,第九章陈坚,第十章胡以平、訾晓渊,第十一章明凤、曲志才,第十二章季朝能,第十三章李瑶、李险峰,第十四章柴建华。

鉴于基因工程新技术新进展资料浩瀚,可能有些应列入的内容没有列入,会有疏漏和不周之处,敬请读者批评、指正,不胜感激。

焦瑞身教授为撰写本书提供了许多宝贵资料,并自始至终关心和指导本书的出版。在此对焦瑞身教授及百忙中撰写本书各章节的专家、教授和博士表示由衷的感谢。

陆德如 陈永青

2002 年 1 月 6 日

内 容 提 要

本书是系统阐述了基因工程的基础理论及其实用技术、反映学科新进展的技术专著。全书共十四章，由三个有机联系的部分组成。第一部分主要介绍基本理论概念，包括原核生物分子遗传学概论和真核生物基因及其特点；第二部分主要介绍各项基因工程操作技术，包括重组 DNA 技术基本方法、聚合酶链式反应、基因的克隆和分离、基因组工程、大肠杆菌中高效表达基因的策略、外源基因在酵母和哺乳动物中的表达；第三部分介绍基因工程的实际应用，包括转基因动物、转基因植物、微生物基因组学、基因芯片技术与人类基因组学研究。

本书理论与实际并重，在内容安排上注重科学性、系统性、条理性、实用性，可供生物领域的科研人员和大专院校师生参考。

目 录

第一章 基因工程的基石——原核生物分子遗传学概述	1
第一节 原核生物分子遗传学发展简史	1
一、基因概念认识的深化	1
二、分子遗传学的形成与发展	2
三、原核生物分子遗传学是基因工程的基石	3
第二节 原核生物基因组和基因的转移	6
一、原核生物基因组的特点	6
二、细菌基因转移的途径	6
三、原核生物中的转座行为	8
第三节 基因突变	9
一、突变与基因符号	10
二、突变的分子基础	10
三、突变株的分离与检测	12
第四节 细菌染色体和质粒的复制	13
一、DNA复制的研究方法	13
二、大肠杆菌染色体的复制	13
三、质粒的复制	14
第五节 原核生物基因的表达与调控	15
一、操纵子水平的转录调控	15
二、基因表达的生理调控	16
三、基因表达的反义调控	17
参考文献	18
第二章 真核生物基因及其特点	19
第一节 真核生物基因组	19
一、真核生物基因组的C值悖理	19
二、真核生物基因组的特点	19
第二节 真核生物基因组DNA序列的复杂性	20
一、真核生物基因组DNA序列的类型	20
二、基因家族	21
三、人类基因组的结构和组成	22
四、真核生物基因的复杂性	23
第三节 DNA分子标记	27
一、RFLP标记	28
二、RAPD标记	29
三、AFLP标记	29

四、SSR 标记	30
第四节 真核基因表达调控元件	31
一、真核基因的顺式作用元件	31
二、调控转录的反式作用因子	32
参考文献	34
第三章 重组 DNA 技术的基本方法	36
第一节 酶学的基本概念	36
一、酶的命名原则	36
二、核酸水解酶	36
第二节 限制性内切酶	36
一、限制性内切酶的分类	37
二、限制性内切酶的命名及其识别特点	37
三、限制性内切酶的切割方式	37
四、限制酶产生的末端的连接	38
五、限制酶反应的影响因素	38
六、星号活性	39
第三节 其他工具酶	39
一、DNA 聚合酶	39
二、T4 噬菌体 DNA 连接酶	41
三、T4 多聚核苷酸激酶	41
四、碱性磷酸酶	41
五、核酸酶	41
第四节 DNA 序列分析	42
一、Maxam-Gilbert 化学法	42
二、Sanger 的双脱氧法	42
三、自动测序的发展	42
第五节 寡核苷酸的合成	43
一、寡核苷酸的生物合成	43
二、寡核苷酸的化学合成	43
三、DNA 化学合成的应用	43
参考文献	44
第四章 聚合酶链反应	45
第一节 聚合酶链反应技术	45
一、聚合酶链反应的原理	45
二、PCR 的反应条件	45
三、Taq DNA 聚合酶与 PCR 扩增的精确性	46
四、PCR 的模板	47
五、PCR 的引物	47
六、PCR 模板的制备	48
七、PCR 扩增产物的电泳分析	48

八、PCR 产物克隆方法	49
九、PCR 应用中存在的问题与解决方法	50
十、PCR 技术最新进展	50
第二节 聚合酶链反应在医学中的应用	52
一、在传染病的诊断和研究中的应用	52
二、PCR 在遗传病的诊断和研究中的应用	52
三、在肿瘤的诊断、研究及残留癌细胞监测中的应用	53
四、在性别鉴定中的应用	54
五、在法医鉴定中的应用	55
六、在器官移植配型中的应用	55
参考文献	56
第五章 基因的克隆和分离	57
第一节 基因克隆和分离的基本步骤	57
一、选择含目的基因的实验材料	57
二、选择合适的方法制备 DNA 片段并克隆	57
三、选择合适方法筛选目的基因	58
第二节 cDNA 文库的构建	58
一、cDNA 合成	58
二、获取全长的 cDNA	59
三、将 cDNA 重组到载体上	60
第三节 目的 cDNA 克隆的筛选	60
一、用核酸探针筛选目的 cDNA	60
二、用寡核苷酸探针筛选目的 cDNA	61
三、差示筛选组织特异的 cDNA	61
四、用抗体筛选目的 cDNA	62
五、功能结合法筛选目的 cDNA	63
六、cDNA 顺序测定	63
第四节 基因组 DNA 克隆	64
一、制备用于克隆的 DNA 片段	65
二、构建基因组文库的克隆载体	65
三、染色体移步分析长片段真核基因	66
参考文献	66
第六章 基因组工程	68
第一节 基因组工程的诞生	68
一、基因研究与基因工程的发展	68
二、基因组计划和生物信息学的发展	68
第二节 基因工程与基因组工程的对比	69
一、操作的基因和载体	69
二、克隆和扩增的宿主	70
三、工程性操作手段	70

四、产物检测	70
第三节 基因组工程技术	71
一、基因组工程载体	71
二、基于遗传同源重组的人工染色体拼接技术	72
三、两种常用的重组序列与重组酶系统	73
四、探索中的染色体大片段遗传操作	73
五、带有外源染色体大片段的新个体的构建	75
第四节 基因组工程学的研究展望	76
一、遗传语文——遗传、发育、分化的操作指令和程序	76
二、细胞生命活动的网络（整合生物学）	77
三、人类社会 21 世纪主导产业的希望之星——基因组工程产业	77
参考文献	78
第七章 大肠杆菌中高效表达基因的策略	79
第一节 关于表达系统	79
第二节 构建有效的表达载体	79
第三节 转录水平的调控	80
一、启动子和阻遏蛋白	80
二、转录终止子	81
第四节 翻译水平的调控	82
一、mRNA 核糖体结合部位的调控成分	82
二、mRNA 翻译起始区二级结构对翻译起始的影响	83
三、密码子的选用与翻译延长速率	86
参考文献	89
第八章 外源基因在酵母中的表达	90
第一节 酵母表达系统概述	90
一、常用宿主	90
二、酵母表达载体的结构特点	90
三、基于酵母表达系统的其他用途	91
四、酵母作为外源基因表达系统的缺陷和初步解决方法	91
第二节 常规酵母表达系统	92
第三节 非常规酵母表达系统	93
一、甲醇酵母	93
二、多形汉逊酵母	96
三、克鲁维酵母	96
第四节 酵母双杂交系统——研究基因功能的重要工具	97
一、酵母双杂交系统的原理	97
二、酵母双杂交系统的发展	98
三、酵母双杂交系统的应用	98
四、酵母双杂交系统的缺陷	99
第五节 利用酵母表达系统的分子筛药体系	100

一、酵母表面展示系统在抗体工程和药物筛选中的应用	100
二、表达 G-蛋白偶联受体的基因工程酵母菌作为分子筛药体系	102
参考文献	105
第九章 外源基因在哺乳动物细胞中的表达	108
第一节 病毒载体系统	108
一、空泡病毒	108
二、牛痘病毒	110
三、牛疣病毒	111
四、逆转录病毒	112
五、腺病毒	115
第二节 用于表达 cDNA 基因的载体	116
一、启动子与增强子	117
二、RNA 剪接信号	117
三、转录终止位点和多聚腺苷酸化信号	117
四、mRNA 的翻译	118
第三节 载体的遗传标记-选择系统	119
一、胸腺嘧啶核苷激酶基因	119
二、氨基葡萄糖苷 3'-磷酸转移酶基因	120
三、二氢叶酸还原酶基因	120
参考文献	120
第十章 转基因动物	121
第一节 显微注射法制备转基因小鼠	122
一、显微注射法制备转基因小鼠的过程	122
二、外源基因在受体基因组中的整合特点	127
三、外源基因在转基因小鼠内的表达特点	128
第二节 病毒转染法制备转基因小鼠	129
一、逆转录病毒转染法制备转基因小鼠	129
二、腺病毒转染法制备转基因小鼠	132
第三节 以生殖细胞为载体制备转基因小鼠	132
一、体外转染生殖细胞法	132
二、体内转染生殖细胞法	133
第四节 胚胎干细胞介导法制备转基因小鼠	134
一、基因剔除小鼠	134
二、基因替换小鼠	138
第五节 利用位点特异性重组系统制备转基因小鼠	139
一、位点特异性重组系统的组成	139
二、位点特异性重组系统的应用	140
第六节 体细胞克隆技术制备转基因鼠	143
第七节 转基因小鼠的命名	143
第八节 转基因小鼠在医学科学研究中的应用	144

一、基因功能分析·····	144
二、疾病发生机制的探讨·····	144
三、实验动物模型的建立·····	144
四、多基因遗传病的研究·····	145
五、药理学研究中的应用·····	145
六、毒理学研究中的应用·····	146
七、药用蛋白生产·····	148
参考文献·····	148
第十一章 转基因植物 ·····	150
第一节 概述·····	150
第二节 植物转基因的技术路线·····	150
第三节 转基因植物的目的基因·····	151
一、抗植物病虫害基因·····	151
二、抗除草剂基因·····	157
三、抗非生物胁迫基因·····	157
四、改良作物品质的基因·····	159
五、提高作物产量的基因·····	162
六、其他植物其他性状的基因·····	162
第四节 植物转基因方法·····	163
一、原生质体转化法·····	163
二、基因枪法·····	164
三、农杆菌介导法·····	164
四、电击法·····	165
五、花粉管通道法·····	165
第五节 外源基因整合的鉴定·····	166
一、标记基因（或选择基因）·····	166
二、PCR 检测与分子标记·····	166
三、Southern 杂交·····	167
第六节 外源基因表达的检测·····	167
一、报告基因的检测·····	167
二、外源基因转录的检测·····	169
三、外源基因表达蛋白的检测·····	169
第七节 植物生物反应器·····	170
第八节 转基因植物的研究进展·····	171
一、全球转基因作物商品化·····	171
二、我国转基因作物的发展·····	174
第九节 转基因植物的安全性评价·····	174
参考文献·····	177
第十二章 微生物基因组学 ·····	179
第一节 基因组全序列的测定和分析·····	180

一、基因文库的构建和序列测定	180
二、缺口填补	180
三、编译读框和蛋白质功能的确定	181
第二节 微生物基因组学和药物的发现和设计	181
一、主要的研究方法	182
二、药物靶点的筛选	182
三、微生物基因组学与致病菌的致病机制及抗药性机制的研究	183
四、探寻新药开发途径、寻找新的治疗方法	183
五、微生物基因组学与药物的筛选	184
参考文献	185
第十三章 基因芯片技术及其应用	186
第一节 前言	186
第二节 基因芯片实验原理	187
一、基因芯片原理及制备方法	187
二、样本制备、标记与芯片杂交	194
三、图像处理与数据处理	195
第三节 基因芯片的应用	199
一、基因芯片在测序及再测序中的应用	199
二、芯片在突变和多样性检测和分析中的应用	200
三、基因芯片与大规模基因表达谱分析	203
四、基因芯片在疾病诊断中的应用	206
五、基因芯片技术在药物研究中的应用	208
六、基因芯片技术在疾病耐药性研究及检测方面的应用	210
七、基因芯片在微生物菌种鉴定及致病机制中的应用	213
八、基因芯片在农林业中的应用	213
九、基因芯片在军事、司法中的应用	214
十、基因芯片在环境保护中的应用	214
参考文献	214
第十四章 人类基因组研究	216
第一节 概述	216
一、疾病与基因	216
二、人类基因组研究计划与目标	217
第二节 基因组图谱分析	218
一、基因组物理图谱	218
二、基因组遗传图谱	223
三、基因组表达图谱	224
四、基因组 SNP 图谱	224
第三节 基因功能、基因与疾病	225
一、功能基因和疾病基因克隆	225
二、功能克隆法	225