

DNA 科学 导论

Restriction digest
with BamHI and HindIII

D.A. 米克勒斯

[美] G.A. 弗里尔 著

D.A. 克罗蒂

陈永青 谢建平 等译

明 凤 余 龙 校

Restriction digest
with BamHI and HindIII

DNA Science

Fragments joined
with DNA ligase

A FIRST COURSE

SECOND EDITION

Fragments joined
with DNA ligase



科学出版社

www.sciencep.com

DNA 科学导论

D. A. 米克勒斯
〔美〕 G. A. 弗里尔 著
D. A. 克罗蒂

陈永青 谢建平 等 译
明 凤 余 龙 校

科 学 出 版 社

北 京

图字:01-2003-5020 号

内 容 简 介

DNA 科学是一门建立在生命分子基础上的科学。本书是冷泉港实验室出版社出版的 *DNA Science: A First Course* 第二版的中文翻译版,介绍了学科发展中的重要人物和他们做的一些重要实验,深入浅出阐释实验技术,展示了现今研究的最前沿,让读者深入了解当今的实验技术。主要内容包括:遗传学的基本原理,DNA 的结构和功能,基因调控;小规模及大规模的 DNA 分析技术,研究单基因的现代技术,全基因组分析的现代方法;癌症的 DNA 科学原理,DNA 科学在人类遗传和进化中的应用,人类物种形成问题等等。本书所包含的思想和技术是 DNA 实验操作中必需的、最基本的思想和技术,借助本书能正确地预见和阐释在未来很多年里科学发展的主流趋势。本书也是初次探索生命分子的人手中一张简单的地图。

本书适于生物化学、分子生物、细胞生物学、遗传学、免疫学、蛋白质组学、功能基因组学等生命科学相关领域研究院所、高校相关院系、实验室的教师、研究生、科研人员,以及生物技术企业的研发者和决策者参考阅读。

书名原文:DNA Science: A First Course, second edition.
© 2003 by Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor,
New York

Translation rights arranged the permission of Cold Spring Harbor Laboratory Press.

All rights reserved.

AUTHORIZED EDITION FOR SALE IN P. R. CHINA ONLY

图书在版编目(CIP)数据

DNA 科学导论/(美)米克勒斯(Micklos, D. A.)等著;陈永青等译.—北京:科学出版社,2005

ISBN 7-03-013943-7

I. D… II. ①米… ②陈… III. 脱氧核糖核酸-研究 IV. Q523

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 084763 号

责任编辑:莫结胜 宋立明 / 责任校对:张 琪

责任印制:钱玉芬 / 封面设计:王 浩

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>

新 蕾 印 刷 厂 印 刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2005 年 5 月 第 一 版 开本:787×1092 1/16

2005 年 5 月 第一次印刷 印张:31 1/4

印数:1—4 000 字数:711 000

定价:65.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换(环伟))

*For Charles and Charlotte,
My connections to the past*

*For Richard, Marian, Carol, and Ann,
My connections to my childhood*

*For Dana, Alec, and Andrew,
My connections to the future*

*For Ellie Greenan,
Who will tell you that DNA is "the thing"*

— DAVID A. MICKLOS

*To my wife Joadie,
and my three sons Kurt, Eric, and Alec*

— GREG A. FREYER

译 校 者

内 容	译 者	审校者
前 言	郭金虎	余 龙
基础理论篇		
第一章	谢建平	陈永青
第二章	谢建平	陈永青
第三章	谢建平	陈永青
第四章	谢建平	陈永青
第五章	谢建平	陈永青
第六章	谢 君	余 龙
第七章	江松敏	余 龙
第八章	郭金虎	余 龙
实验教程篇		
实验一至十二	郭 滨 韩颖颖	王静文 明 凤
附 录	郭 滨 韩颖颖	王静文 明 凤
索 引	陈永青	

译者序

去年,我自告奋勇组织一个班子翻译了这本书,在不时地翻阅原著和纵览这个翻译本时,常会自言自语,好像有话要与读者说说。

我先问自己,既然已经从教学、科研、管理的前沿阵地退下来了,为啥对这本书的翻译感兴趣呢?

我还清楚地记得,差不多去年这个时候,我与青年学生一起从网上关注全球范围内开展纪念 DNA 双螺旋结构发现 50 周年的庆典活动,各国网站上(包括我国)各种庆典活动所提供的学术资源和信息可以说是铺天盖地,充分展现了 50 年来人类探索生命奥秘的伟大成就和对未来 50 年生命科学发展的预见和展望。正当我们想把这一百年的回顾与遐想编撰成生命科学之旅中一本有价值的教科书时,接到了科学出版社寄来的由美国冷泉港出版社出版的 *DNA Science: A First Course*。最初被吸引的是书中 100 多张珍贵的历史和人物的照片以及新鲜的书名:DNA 科学(DNA Science)。这是一本难得的教科书,让人爱不释手。

DNA,这个缩写的英文学术名词,不作翻译,家喻户晓。可 DNA Science 的含义呢?它讲些什么?恐怕不会有很多人能说得头头是道。据本书的作者 David Micklos 和 Greg Freyer 指点,DNA 科学一词是 1988 年 Jim Watson 提出来的。那时,这位分子生物学的奠基人从事 DNA 研究差不多已经 40 年了。原著的作者认为 DNA 科学这个复合名词恰到好处地反映了他们向学生介绍的新的 DNA 世界所具有的简单特征:一门建立在生命分子上的科学和一本将这门科学生动地介绍给学生的书。他们还希望这本 *DNA Science* 成为初次探索生命分子的人手中一张简单的地图。我把这本书的名字翻译成《DNA 科学导论》,是不是更贴近他们的初衷?

为便于读者浏览阅读和更适用于教材,我在原著的目录基础上把章细化出节,当然在课堂教学中还可以灵活应用。

参与这本书翻译的是一支战斗在教学和科研第一线的博士队伍,他们也是翻译高手,我感谢他们辛勤和出色的工作,余龙教授百忙之中帮我做校对工作,何颖同学为本书的出版鼎力相助。在此一并致谢。

我纵览全书,统一翻译稿时发现,由于我的索引名词翻译的滞后,使各个章节翻译的规范不统一,虽尽力做了改动,还会出现不尽如人意的地方,望读者谅解和指正。

最后,我还想强调的是 DNA 科学是了解生命奥秘的关键学科,与读者同学习,共勉之。

陈永青

2004 年 9 月

前言

1984年, Greg 是冷泉港实验室的一个博士后, 导师是 Rich Robert。如果说研究工作是 Greg 生活中的首要内容, 那么本书的撰写工作则可以看作 Greg 生活内容的第二个组成部分。本书的另一作者 Dave^① 认为, 书中涉及的内容是引导读者通向未知的 DNA 世界的钥匙。鉴于当时没有为中学高年级学生和大学低年级学生开设的分子生物学实验技术课程, Greg 想到: 为什么不建立一系列实验方法, 让任何学生都有机会制备和分析重组 DNA 分子呢?

由此 Dave 开始了本书的撰写工作, 利用在 Robert 实验室工作之余的零碎时间, 他写了一个 14 页的参考手册, 其中包含了 Greg 对开设重组 DNA 技术实验室入门教程的内容的设想。Rich Robert(后来荣膺诺贝尔奖) 以及很多杰出的科学家, 非常慷慨地将他们的想法和各种实验技巧提供给了我们。Doug Hanahan 将他所采用的转化大肠杆菌的极为简化的方法与我们分享, ED Harlow 实验室的吹风机则向我们提供了一种灵敏而时髦的干燥 DNA 沉淀的方法。

最终呈现在眼前的《重组 DNA 技术入门指南》是一部长达 124 页的手稿, 该手稿于 1985 年夏季在长岛的师生中首次试用。次年我们添置了两辆“载体大篷车”, 装载着离心机、加液器、电泳槽、水浴锅、温箱、试剂等物品, 一直塞到了车顶, 这么多装备足以在任何地方“重组”搭建起一个分子遗传学实验室。很多年夏天, 我们驾驶着大篷车往来于美国各地, 用本书中提及的实验技术对成千上万的生物教师进行培训, 因此在那些夏天里浮现在我们脑海中的记忆是很多地方和很多张面孔的模糊印象。此间, Greg 离开了冷泉港, 赴哥伦比亚大学执教。Dave 则成立了 Dolan DNA 学习中心。

1988 年吉姆·沃森(Jim Watson)在冷泉港的一次午餐时, 提出了“DNA 科学(DNA science)”一词。对吉姆而言那不过是日常的、无意的评论——到那时他从事 DNA 研究差不多已经 40 年了。但对我们而言则是听者有意, 因为这个词恰到好处地反映了我们想向学生介绍的新的 DNA 世界所具有的简单特性: 一门建立在生命分子基础上的科学和一本将这门科学生动地介绍给学生的书。

在本书的第二版中, 我们沿用了第一版中深入浅出的说明文字讲解屡经验证的实验技术的成功套路。我们保留了第一版中基本的实验顺序安排, 即先介绍 DNA 的限制酶切、转化、分离和分析, 然后介绍如何应用这些技术来构建分析一个简单的 DNA 重组分子。我们在新版里避免对实验技术进行过多的修改, 因为这些实验技术经检验证明是最好的, 并且是在教学实验中应用最为广泛的基因操作技术。这些实验和另外一些类似的实验为带领美国高中和大学生物系的学生登堂入室、了解分子遗传学提供了帮助。

在过去的几年中, 我们对实验技术和实验思想的教学进行了改进, 国家癌症中心(National Cancer Institute)的 Steve Hughes 向我们提供了用玻璃珠涂布大肠杆菌的方法, 这让我

^① Dave 是 David 的爱称。——出版者注

们再也不必使用酒精灯。我们也收录了另外一些专门对基因产物进行操作的实验技术,这至少也是对“生物学不只是研究 DNA”批评的部分回应。有人提供了用比色法测 β -内酰胺酶(即青霉素酶、氨苄青霉素抗性基因的蛋白产物)活性的简易方法,以及用绿色荧光蛋白(GFP)来跟踪蛋白质的表达和蛋白质纯化的原理,免除了使用柱子纯化的麻烦。

新版虽然保留了第一版中一些经典的实验方法,但对全书文字比例进行了大幅度的调整,增加了 200 多页的新内容,展示了现今研究的最前沿。本书不仅仅是罗列事实,而且是进一步让学生深入了解当今的实验技术,介绍学科发展中的重要人物和他们做的一些重要实验。分子生物学和发育生物学家 David Crotty 也为新版提供了许多资料和深刻见解。

本书第二版前三章内容主要讲述遗传学的基本原理、DNA 的结构和功能。在第一、二章中,通过简单讲解“如何得知 DNA 是遗传物质”和“如何了解 DNA 的功能”来介绍发现 DNA 的历史背景。第三章“基因调控”则讲述了从经典的乳糖操纵子的研究时代直到现在我们所了解的基因的多重调控机制。

接下来的三章介绍的是小规模及大规模的 DNA 分析技术;第四章“DNA 科学的基本工具和技术”讲解实验原理,第五章“重要基因的鉴别和表达”讲述了研究单基因的现代技术,第六章“全基因组分析的现代方法”介绍了人类基因组测序时的各种竞争和同时处理上百个基因的新技术。

最后几章着重讨论了人类面临的主要问题。第七章“癌症的 DNA 科学原理”描述了人们与癌症抗争的历程以及近年来在与这种最为恐怖的疾病斗争中所取得的进步;第八章“DNA 科学在人类遗传学和进化研究中的应用”探索了人类遗传变异的分子基础及其与疾病的关系,还讨论了人类物种形成问题,这一章也涉及了美国生物学意义上最初的优生学的真实情形。

尽管从第一版付梓至今,生物学有了很大的发展,但本书所包含的思想和技术是 DNA 实验操作中必需的、最基本的思想和技术。尽管当前分子生物学研究越来越依靠测序仪和基因芯片,然而凝胶电泳仍然是初学者初登 DNA 殿堂的必经之路。虽然高等生物实验材料在实验中越来越受重视,但是只要有温箱等简单的设备,以及花费几个小时,低等的大肠杆菌仍能对生物学研究有所裨益。

与第一版的初衷相同,我们希望第二版的《DNA 科学导论》^①能正确地预见和阐释在未来很多年里科学发展的主流趋势。我们希望《DNA 科学导论》成为初次探索生命分子的人手中一张简单的地图。随着世界上越来越多的生物教师认识到为学生自由操作 DNA 提供机会的重要性,我们相信本书的意义将弥显重要。

D. A. 米克勒斯(Dave A. Micklos)与 G. A. 弗里尔(Greg A. Freyer)

2002 年 11 月

(郭金虎 译 余 龙 校)

^① 此书英文原名为 DNA Science: A First Course,冷泉港实验室出版社 2003 年出版了此书的第二版,并由科学出版社引进、组织翻译。——出版者注

致 谢

MANY PEOPLE HAVE BEEN GENEROUS WITH THEIR TIME and resources over the years. *DNA Science* would not have been possible without them:

To Rich Roberts, who provided us both a place to think and to tinker.

To Wendy Russell and Mary Jeanne and Henry Harris, who have supported Dave from the very beginning.

To Charles and Helen Dolan, who gave Dave a great place to work.

To Clarence Michalis and David Luke, of the Josiah Macy, Jr. Foundation, who twice took the chance to support new ideas in science education.

To the National Science Foundation, which has enabled us to help a lot of teachers move into the DNA world.

To Mark Bloom, who helped perfect these experiments and taught them to as many teachers as anyone.

To Sue Lauter, who conceived much of the art.

To Ellen Skaggs and Judy Cumella-Korabik, who minded the store when Dave was away.

To Shirley Chan and all who worked on "DNA From The Beginning" (<http://www.dnaftb.org>), which proved to be a valuable resource in assembling this book.

To Scott Bronson and Jennie Aizenman, who made and tested the new molecules and protocols in this edition.

To J. Jiji Miranda, who produced many of the photographs of gels found in the Laboratory section.

To the Carolina Biological Supply Company for their assistance throughout the development of this edition.

To Jamie Lee for his thorough and helpful review of the manuscript.

To Alex Gann, Laurie Goodman, and the many other scientists who contributed suggestions about the content and illustrations and figures.

To Emily Huang and Beth Nickerson for their editorial contributions, and to Siân Curtis and Tamara Howard for fact-checking portions of the material.

To Mary Cozza, Dorothy Brown, and Susan Schaefer for their hard work in organizing and assembling our material into book form.

To Jim Watson, the dean of DNA, who has made Cold Spring Harbor a place where any good idea can grow.

And to the teachers and students who have made this book a success.

Development and testing of the laboratory sequence was made possible through the support of the following:

Citicorp/Citibank
Brinkmann Instruments
Josiah Macy, Jr. Foundation
National Science Foundation
J.M. Foundation
Richard Lounsbery Foundation
The Banbury Fund
Esther A. and Joseph Klingenstein Fund
Amersham Corporation
Argonne National Laboratory
Bethany College
Biology Teachers' Organization, Winnipeg, Manitoba
Center for Biotechnology, State University of New York at Stony Brook
Cleveland Clinic Foundation
Cooperating School Districts of St. Louis Suburban Area, Inc.
Dorcas Cummings Memorial fund of the Long Island Biological Association
Samuel Freeman Charitable Trust
GIBCO/BRL Research Products, a division of Life Technologies, Inc.
Fotodyne Incorporated
Harris Trust
Eli Lilly and Company
New England Biolabs Foundation
North Carolina Biotechnology Center
Pioneer Hi-Bred International, Inc.
San Francisco State University
University of California at Davis

and THE COLD SPRING HARBOR CURRICULUM STUDY:

Cold Spring Harbor Central School District
Commack Union Free School District
East Williston Union Free School District
Great Neck Public Schools
Harborfields Central School District
Half Hollow Hills Central School District
Herricks Union Free School District
Huntington Union Free School District
Island Trees Union Free School District
Irvington Union Free School District
Jericho Union Free School District
Lawrence Public Schools
Lindenhurst Public Schools
Locust Valley Central School District
Manhasset Public Schools
Northport-East Northport Union Free School District
North Shore Central School District
Oyster Bay-East Norwich Central School District
Plainedge Public Schools
Plainview-Old Bethpage Central School District
Portledge School
Port Washington Union Free School District
Sachem Central School District at Holbrook
South Huntington Union Free School District
Syosset Central School District

目 录

译者序

前言

致谢

基础理论篇

第一章 如何得知 DNA 是遗传物质	3
第一节 分子生物学是多学科交叉的结果	4
第二节 分子生物学的基础是物理/化学原则和抽象的模式系统	5
第三节 后基因组时代要求采用更加综合的研究手段	5
第四节 分子生物学源于结构-功能关系说	6
第五节 分子生物学源于研究遗传本质的好奇	7
第六节 如何解释物种的多样性(和相似性)?	8
第七节 性状如何在不同世代之间传递?	10
第八节 基因位于何处?	13
第九节 进化与遗传学之间有何联系?	15
第十节 基因是物质实体吗?	16
第十一节 基因具有哪些功能?	20
第十二节 遗传物质是何分子?	22
第十三节 DNA 分子的结构	27
参考文献	30
第二章 如何了解 DNA 的功能	32
第一节 DNA 如何复制?	32
第二节 DNA 如何多次复制?	33
第三节 染色体末端如何复制?	36
第四节 DNA 的信息如何指导蛋白质合成?	37
第五节 细胞如何制造 RNA?	39
第六节 蛋白质是 20 种不同氨基酸组成的线性聚合物	40
第七节 解析了胰岛素的一级结构	43
第八节 蛋白质如何合成?	44
第九节 合成蛋白质的过程	47
第十节 如何知道基因中的信息直接翻译为蛋白质?	48
第十一节 蛋白质在翻译后被修饰	51
第十二节 蛋白质如何被降解?	53
第十三节 中心法则	53
参考文献	55

第三章 基因调控	56
第一节 真核生物的基因调控	60
第二节 RNA 的加工	62
第三节 可变剪接	68
第四节 翻译控制	71
第五节 玉米中的转座子	72
第六节 基因重排	73
第七节 组织特异性基因调控	77
第八节 基因的协调表达	78
参考文献	85
第四章 DNA 科学的基本工具和技术	86
第一节 限制性内切核酸酶	87
第二节 凝胶电泳	91
第三节 质粒载体	93
第四节 宿主细胞:大肠杆菌	97
第五节 转化	98
第六节 电转化	100
第七节 重组质粒的分离分析	100
第八节 第一个重组 DNA 分子	102
第九节 模式生物	104
参考文献	112
第五章 重要基因的鉴别和表达	113
第一节 生物化学家和分子遗传学家面临的问题	113
第二节 分子生物学家的解决办法:构建和筛选文库	115
参考文献	148
第六章 全基因组分析的现代方法	149
第一节 人类基因组计划的产生	152
第二节 染色体图谱和标记	155
第三节 层次鸟枪克隆库	164
第四节 表达序列标签	165
第五节 全基因组鸟枪测序	166
第六节 人类基因组测序的尾声	168
第七节 生物信息学:在我们的基因中寻找信息	170
第八节 人类基因组之外	172
第九节 人类基因组的结构和意义	176
第十节 为什么基因这么少而“垃圾”却这么多?	178
推荐读物	181
第七章 癌症的 DNA 科学原理	182
第一节 何为癌症?	182

第二节	用肿瘤病毒制作癌症模型	184
第三节	病毒癌基因的起源:转导	187
第四节	病毒和人类癌症	190
第五节	哺乳动物细胞转染	191
第六节	人类癌基因:好基因变坏	192
第七节	肿瘤抑制基因	195
第八节	癌基因和肿瘤抑制因子的联合	196
第九节	合作转化和“多次打击”瘤形成学说	197
第十节	致癌剂、点突变和高危个体	199
第十一节	染色体异常和基因扩增	200
第十二节	信号转导:癌症是细胞内一种通讯异常的疾病	202
第十三节	细胞周期与凋亡	206
第十四节	提高对癌症的诊断和治疗能力	208
	参考文献	213
第八章	DNA 科学在人类遗传学和进化研究中的应用	214
第一节	Charles Davenport 和优生学	215
第二节	优生学将“不良品性”归咎于基因	217
第三节	现代人类遗传学碰到的问题	223
第四节	决定人类疾病的染色体基础	224
第五节	DNA 多态性的重要性	230
第六节	基因克隆:从连锁分析到 DNA 诊断	237
第七节	药物基因组学	245
第八节	寻找与复杂疾病有关的基因	245
第九节	回顾人类和人口的发展史	249
第十节	生物学意义上的种族概念	250
第十一节	化石记录告诉了我们哪些人类进化的事?	252
第十二节	DNA 分子钟	253
第十三节	DNA 和人类进化	254
	推荐读物	263
	实验教程篇	
	实验室安全操作和国家卫生研究院安全条例	265
	实验室废物处理	265
	大肠杆菌的使用	265
	国家卫生研究院条例	265
	微生物学的基本操作	266
	溴化乙锭的使用	266
	参考文献	267
实验一	称量、微量移液和灭菌消毒技术	268
	注意事项	269

预实验.....	269
材料.....	270
方法.....	270
结果与讨论.....	274
进一步研究.....	275
实验二 细菌的培养技术.....	276
A 部分 单菌落的分离	277
注意事项.....	277
预实验	278
材料.....	279
方法.....	279
结果与讨论.....	281
B 部分 过夜悬浮培养	283
注意事项.....	283
预实验.....	284
材料.....	284
方法.....	284
结果与讨论.....	285
进一步研究.....	286
C 部分 对数期培养.....	287
注意事项.....	287
预实验.....	288
材料.....	288
方法.....	288
结果与讨论.....	290
进一步研究.....	290
实验三 DNA 的限制性内切核酸酶分析	292
注意事项.....	293
预实验.....	299
材料.....	299
方法.....	300
结果与讨论.....	303
进一步研究.....	307
实验四 DNA 甲基化对限制性内切核酸酶反应的影响	310
注意事项.....	311
预实验.....	312
材料.....	313
方法.....	313
结果与讨论.....	317

进一步研究.....	318
实验五 质粒 DNA 快速转化大肠杆菌的方法	319
注意事项.....	320
预实验.....	323
材料.....	323
方法.....	324
结果与讨论.....	327
进一步研究.....	329
实验六 抗生素抗性酶的分析.....	330
注意事项.....	331
预实验.....	332
材料.....	333
方法.....	333
结果与讨论.....	335
进一步研究	336
实验七 GFP 重组体的纯化和鉴定	338
A 部分 利用 HIC 方法纯化 GFP	338
注意事项.....	339
预实验.....	340
材料.....	340
方法.....	341
结果与讨论.....	341
进一步研究	342
B 部分 纯化的 GFP 蛋白的 PAGE 分析	342
注意事项.....	342
预实验	343
材料.....	343
方法.....	344
结果与讨论	345
进一步研究	345
实验八 质粒 DNA 的纯化和鉴定	346
A 部分 pAMP 质粒的小量制备	346
注意事项.....	347
预实验.....	348
材料	348
方法	349
结果与讨论.....	351
进一步研究	351
B 部分 纯化 pAMP 的限制性内切核酸酶分析	352

注意事项	352
预实验	353
材料	354
方法	354
结果与讨论	357
进一步研究	359
实验九 具有抗生素抗性基因的重组	360
A 部分 pAMP 和 pKAN 质粒的限制酶切	361
注意事项	362
预实验	362
材料	363
方法	363
结果与讨论	365
B 部分 pAMP 和 pKAN 限制酶切片段的连接	366
注意事项	367
预实验	367
材料	367
方法	368
结果与讨论	368
进一步研究	369
实验十 重组 DNA 转化大肠杆菌	370
A 部分 感受态细胞的传统制备方法	370
注意事项	371
预实验	371
材料	372
方法	372
B 部分 重组 DNA 转化大肠杆菌	374
注意事项	375
预实验	375
材料	375
方法	376
结果与讨论	378
进一步研究	379
实验十一 影印培养鉴定大肠杆菌菌落	381
注意事项	382
预实验	382
材料	383
方法	383
结果与讨论	383

进一步研究.....	384
实验十二 纯化和鉴定重组 DNA	386
A 部分 pAMP/pKAN 重组质粒的小量制备	386
注意事项.....	387
预实验.....	388
材料.....	388
方法.....	388
B 部分 纯化的重组质粒的酶切分析	390
注意事项	391
预实验	391
材料.....	392
方法.....	392
结果与讨论.....	395
进一步研究.....	397
答案与讨论	400
实验一 称量、微量移液和灭菌消毒技术	400
实验二 A 单菌落的分离	400
实验二 B 过夜悬浮培养	401
实验二 C 对数期培养	401
实验三 DNA 的限制性内切核酸酶分析	401
实验四 DNA 甲基化对限制性内切核酸酶反应的影响	403
实验五 质粒 DNA 快速转化大肠杆菌的方法	404
实验六 抗生素抗性酶的分析.....	406
实验七 A 利用 HIC 方法纯化 GFP	406
实验七 B 纯化的 GFP 蛋白的 PAGE 分析	406
实验八 A pAMP 质粒的小量制备	407
实验八 B 纯化 pAMP 的限制性内切核酸酶分析	408
实验九 B pAMP 和 pKAN 限制酶切片段的连接	409
实验十 B 重组 DNA 转化大肠杆菌	410
实验十一 影印培养鉴定大肠杆菌菌落.....	412
附录 1 仪器、耗材与试剂	413
I. 仪器	413
II. 耗材	414
III. 培养基	414
IV. 培养基成分	415
V. 生物试剂与酶类	415
VI. 试剂	416
VII. 试剂组分	417
VIII. 试剂盒	417