

中国检验人才认证协会（CIPCA）指定实践教材

生物技术检验检疫 实践教程

陈超 魏泉德 主 编

李志鹏 杨帆 柯明剑 保俐 张恒 副主编

SHENGWU JISHU JIANYAN JIANYI
SHIJIAN JIAOCHENG



华南理工大学出版社
SOUTH CHINA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY PRESS

中国检验人才认证协会（CIPCA）指定实践教材

生物技术检验检疫 实践教程

陈超 魏泉德 主 编

李志鹏 杨帆 柯明剑 保俐 张恒 副主编



华南理工大学出版社
SOUTH CHINA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY PRESS

· 广州 ·

内 容 提 要

本书内容与生物技术、生物工程专业理论课程配套,介绍了利用生物技术的方法进行检验检疫实践,主要包括生物信息分析基础、基因群生物信息分析、实时荧光定量 PCR、实时荧光 COLD-PCR 检测点突变、抗体金标记、生物芯片、色谱质谱联用及细胞转染实践八个技术实践模块。内容布置上具有如下特点:一是学有所用,所选实践在设计上符合社会的实际检测需求,实践项目直接取之于相关检验部门;二是行有所规,实践流程引入“ISO/IEC 17025:2005”管理理念;三是实践本身,所有章节都有具体的实验结果,由指导教师与学生实际验证后,将结果用图表展现,配上编者的具体实验心得,便于读者掌握实践过程细节,达到学能有所思的目的。通过本书的学习与实践,学生可以直接参加相关技术工作,免去岗前技术培训环节。

图书在版编目(CIP)数据

生物技术检验检疫实践教程/陈超,魏泉德主编. —广州:华南理工大学出版社,2016.3

ISBN 978-7-5623-4855-9

I. ①生… II. ①陈… ②魏… III. ①生物检验-教材 IV. ①R446.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 320383 号

生物技术检验检疫实践教程

陈 超 魏泉德 主编

李志鹏 杨 帆 柯明剑 保 俐 张 恒 副主编

出 版 人: 卢家明

出版发行: 华南理工大学出版社

(广州五山华南理工大学 17 号楼, 邮编 510640)

http://www.scutpress.com.cn E-mail: scutcl3@scut.edu.cn

营销部电话: 020-87113487 87111048 (传真)

策划编辑: 李良婷

责任编辑: 苏 萍 王荷英 李良婷

印 刷 者: 佛山市浩文彩色印刷有限公司

开 本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 9.75 字数: 220 千

版 次: 2016 年 3 月第 1 版 2016 年 3 月第 1 次印刷

定 价: 45.00 元

版权所有 盗版必究 印装差错 负责调换

编 委 会

主 编:

陈 超 北京师范大学珠海分校
魏泉德 珠海市疾病预防控制中心

副主编:

李志鹏 北京师范大学珠海分校
杨 帆 珠海市丽珠单抗生物技术有限公司
柯明剑 珠海国际旅行卫生保健中心医学媒介生物监测中心
保 俐 珠海国际旅行卫生保健中心
张 恒 深圳出入境检验检疫局

编 委 (排名不分先后):

吴 杰	张 成	汪 波	许 华	朱敏杰	覃 铭
李文芬	林 燕	李雪君	张新霞	李秀菊	高 珊
贾甜甜	史明敏	韩宇浩	孙 青	唐玉铃	张瑾琨

前言

《国家中长期科学和技术发展规划纲要（2006—2020年）》将生物技术作为科技发展的五个战略重点之一。2005年3月，《中国生物产业发展战略研究》报告出炉，提出发展生物产业对我国具有重要战略意义，我们要紧紧抓住生物科技革命和产业革命的重大战略机遇，实施生物经济强国战略，力争通过10~15年的努力，将我国生物产业发展成为产业规模大、科技含量高、增长速度快、具有重大带动作用的新兴主导产业，形成一批具有较强国际竞争力和国际化经营能力的现代生物企业。

2010年9月通过的《国务院关于加快培育和发展战略性新兴产业的决定》将生物产业列入战略性新兴产业。2011年年底，科学技术《“十二五”生物技术发展规划》提出分子分型、生物芯片、生物过程工程技术、生物安全关键技术等发展重点。在具体实施上，要求深化体制改革，建立多渠道投入机制，鼓励产学研结合，扩大国际与地区合作。

长期以来，珠海市高度重视生物产业创新与发展，采取了多种措施来支持生物产业的发展。珠海市的生物产业产值超过140亿元，是珠海市的八大支柱产业之一。目前，珠海拥有生物技术企业252家，在经济总量和企业数量上仅次于深圳、广州，排在广东省第三位。珠海市统筹推进粤澳合作横琴中医药科技产业园、金湾生物医药产业园、富山生物医药产业园、唐家湾医疗器械研发产业基地和万山海洋药物培育基地的建设，打造区域性新药创制中心、全国一流的生物医药产业基地和全球生物医药资源新型配置中心，重点推动基因工程药物、单克隆抗体、多肽和核酸、基因工程疫苗、新型生化药物、医用诊

断试剂等生物技术产品的研发和生产。

随着珠海市在生物技术领域政策引导力度的加强，珠海的生物技术产业得到了飞速的发展，亟需一大批高素质人才。目前珠海市无论是在生物技术产品开发的设计人才、生物过程安全控制的检验人才方面，还是在产品生产的国际标准化人才方面都存在严重不足的问题。

随着基因技术、生物工程等领域的发展和产业升级，这类高技术专业人才的缺口会越来越大。虽然全省各地高校都开设了一些生物技术与生物工程类的专业，但是能够在生产第一线熟练控制产品安全、保障生物制品安全的专业技术人员还是相当缺乏。同时，随着中国加入世贸组织后与国际接轨的加速，对生物性产品的生产、管理及安全检测有着严格的标准要求，这就需要大批既懂得国际法规和标准，又懂得生物性产品生产技术、检验技术的在一线从事产品质量检验、监督工作的高级“标准化”管理人才。珠海作为毗邻港澳的外向型城市，在这方面的国际化人才缺口问题更为突出，加速此类“技术化、标准化、国际化”复合人才的培养迫在眉睫。

本书就是以检验检疫实践方向为切入点，以“技术化、标准化、国际化”特色人才联动培养为目标，为生物技术人才实践提供规范化的实践专用教材。

编 者

目录

1 基因电子克隆与初步生物信息分析基础实践

1.1 实践目的与知识背景	(1)
1.1.1 实践目的	(1)
1.1.2 生物信息数据库	(1)
1.1.3 热休克蛋白 90	(2)
1.2 实践材料与方法	(2)
1.2.1 生物信息学数据库和软件	(2)
1.2.2 人类 <i>HSP90-β</i> 基因的电子克隆步骤	(3)
1.2.3 人类 <i>HSP90-β</i> 基因的核酸和蛋白质序列分析	(3)
1.3 实践结果与分析	(3)
1.3.1 EST 数据库的检索结果	(3)
1.3.2 人类 <i>HSP90-β</i> 基因电子克隆	(4)
1.3.3 人类 <i>HSP90-β</i> 基因的核酸序列分析	(5)
1.4 实践体会	(8)
1.5 小结	(8)

2 含有某蛋白结构域基因群生物信息学分析实践

2.1 实践目的与知识背景	(10)
2.1.1 实践目的	(10)
2.1.2 基因本体论	(10)
2.1.3 Blast2GO	(11)
2.1.4 Reticulon 结构域	(11)
2.2 实践材料与方法	(12)
2.2.1 序列获取	(12)
2.2.2 系统进化树分析	(12)
2.2.3 Blast2GO 功能注释	(13)
2.2.4 目的基因选取	(13)
2.2.5 疏水性分析	(13)

2.2.6	跨膜结构分析	(13)
2.2.7	结构域功能分析	(14)
2.2.8	二级结构预测	(14)
2.2.9	三级结构预测	(14)
2.3	实践结果与分析	(15)
2.3.1	水稻中含有 Reticulon 结构域基因	(15)
2.3.2	系统进化树	(16)
2.3.3	Blast2GO 功能注释结果与目的基因选取	(16)
2.3.4	疏水性分析	(17)
2.3.5	跨膜结构分析	(19)
2.3.6	结构域分析结果	(20)
2.3.7	二级结构分析结果	(21)
2.3.8	三级结构预测结果	(22)
2.4	实践体会	(23)
2.4.1	Blast2GO	(23)
2.4.2	进化树分析	(24)
2.5	小结	(24)

3 实时荧光 PCR 定量分析实践

3.1	实践目的与知识背景	(25)
3.1.1	实践目的	(25)
3.1.2	水稻概述	(26)
3.1.3	实时荧光定量 PCR 技术	(26)
3.1.4	实时荧光定量 PCR 技术原理	(26)
3.1.5	荧光定量 PCR 中两个重要的概念	(28)
3.1.6	Ct 值与起始模板的关系	(28)
3.1.7	PCR 溶解曲线	(29)
3.1.8	管家基因的选择	(29)
3.1.9	双标准曲线法原理	(29)
3.1.10	本实践技术路线	(29)
3.2	实践材料与方法	(30)
3.2.1	主要仪器	(30)
3.2.2	PCR 引物制备	(30)
3.2.3	cDNA 模板的制备	(31)

3.2.4	质粒构建	(32)
3.2.5	其他试剂	(33)
3.2.6	实时 PCR 扩增体系	(33)
3.2.7	RQ-PCR 扩增曲线条件	(34)
3.2.8	RQ-PCR 熔解曲线条件	(35)
3.2.9	样本检测	(35)
3.3	实践结果与分析	(36)
3.3.1	RNA 提取及电泳鉴定	(36)
3.3.2	引物筛选结果	(36)
3.3.3	Mg ²⁺ 优化	(39)
3.3.4	双标准曲线的制作	(40)
3.3.5	水稻基因 <i>LOC_Os01g45914</i> 时空表达情况	(42)
3.4	实践体会	(46)
3.4.1	实时定量 PCR 技术的优点	(46)
3.4.2	降落 PCR	(47)
3.4.3	参照基因 <i>eEF-1α</i>	(47)
3.4.4	PCR 反应体系条件优化	(48)
3.4.5	结论	(50)
3.4.6	展望	(50)
3.5	小结	(50)

4 实时荧光 COLD-PCR 检测点突变实践

4.1	实践目的与知识背景	(51)
4.1.1	实践目的	(51)
4.1.2	白血病概述	(52)
4.1.3	白血病发病机理	(53)
4.1.4	白血病分子遗传学	(53)
4.1.5	微小残留白血病及其检测	(54)
4.1.6	基因突变的研究背景	(55)
4.1.7	COLD-PCR 技术	(57)
4.1.8	COLD-PCR 技术的应用	(59)
4.1.9	其他 PCR 技术	(59)
4.2	实践材料与方法	(61)
4.2.1	实验仪器	(61)

4.2.2	主要材料	(61)
4.2.3	其他试剂	(62)
4.2.4	染料法测定野生型、突变型熔点	(62)
4.2.5	非 COLD-PCR 反应体系和反应程序的建立	(63)
4.2.6	FAST-COLD-PCR 反应体系和反应程序的建立	(64)
4.2.7	灵敏度分析的模板准备	(65)
4.3	实践结果与分析	(65)
4.3.1	反应体系优化	(65)
4.3.2	Mg ²⁺ 浓度的优化	(65)
4.3.3	不对称比例优化	(66)
4.3.4	探针浓度优化	(67)
4.3.5	灵敏度考察	(68)
4.3.6	COLD-PCR 程序的建立与优化	(69)
4.3.7	COLD-PCR 程序初步优化	(70)
4.3.8	COLD-PCR 程序再次优化	(72)
4.3.9	COLD-PCR 稳定性重复实践	(74)
4.3.10	COLD-PCR 灵敏度	(77)
4.4	实践体会	(77)
4.4.1	COLD-PCR 技术的优点	(77)
4.4.2	利用探针熔解曲线来检测突变的优缺点	(78)
4.4.3	结论	(80)
4.4.4	展望	(80)
4.5	小结	(80)

5 抗体金标记检测试纸制备与鉴定实践

5.1	实践目的与知识背景	(81)
5.1.1	实践目的	(81)
5.1.2	黄曲霉毒素	(81)
5.1.3	胶体金免疫层析技术	(82)
5.1.4	胶体金免疫层析技术的应用	(83)
5.2	实践材料与方法	(84)
5.2.1	实践材料	(84)
5.2.2	实践仪器	(84)
5.2.3	实践方法	(84)

5.3 实践结果与分析	(86)
5.3.1 胶体金的紫外扫描鉴定	(86)
5.3.2 试纸条灵敏度、特异性及其检测范围	(87)
5.3.3 油脂样品的检测	(88)
5.3.4 假阳性、假阴性的测定	(88)
5.3.5 免疫层析试纸条的重现性	(89)
5.3.6 免疫层析试纸条的稳定性	(89)
5.4 实践体会	(89)
5.4.1 结论	(89)
5.4.2 改进	(89)
5.5 小结	(90)

6 基因芯片技术基础实践

6.1 实践目的与知识背景	(91)
6.1.1 实践目的	(91)
6.1.2 生物芯片简介	(91)
6.1.3 基因芯片制作方法	(92)
6.1.4 基因芯片改性技术简介	(92)
6.1.5 聚乳酸材料简介	(94)
6.1.6 显色方法简介	(94)
6.2 实践材料与方法	(94)
6.2.1 仪器	(94)
6.2.2 试剂	(95)
6.2.3 溶液配制	(96)
6.2.4 聚乳酸片	(96)
6.2.5 DNA 片段	(97)
6.2.6 实践方法	(97)
6.3 实践结果与分析	(100)
6.3.1 <i>ARF8</i> 基因扩增产物电泳图	(100)
6.3.2 PLA 芯片硅烷化前后比较图	(100)
6.3.3 PLA 芯片结果示意图	(101)
6.4 实践体会	(101)
6.4.1 结论	(101)

6.4.2 改进	(101)
6.5 小结	(102)

7 高效液相色谱—串联质谱实践

7.1 实践目的与知识背景	(103)
7.1.1 实践目的	(103)
7.1.2 甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂	(103)
7.1.3 甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂检测方法发展现状	(103)
7.1.4 检测方法的选择与建立	(104)
7.1.5 本章实践主要过程	(106)
7.2 实践材料与方法	(107)
7.2.1 实践材料	(107)
7.2.2 实践试剂	(107)
7.2.3 实践仪器	(107)
7.2.4 农药标准溶液配制	(108)
7.2.5 样品处理	(108)
7.3 实践结果与分析	(108)
7.3.1 标准溶液色谱	(108)
7.3.2 检测方法的选择与建立	(109)
7.3.3 定性筛查	(109)
7.3.4 定量分析与方法科学性验证	(111)
7.3.5 方法精确度和准确度	(111)
7.3.6 实际样品的测定	(112)
7.4 实践体会	(113)
7.5 小结	(114)

8 CRISPR/CAS 载体构建与转染实践

8.1 实践目的与知识背景	(115)
8.1.1 实践目的	(115)
8.1.2 CRISPR/CAS 系统概述	(115)
8.1.3 CRISPR/CAS 系统的广泛分布和分类	(115)
8.1.4 <i>hCdc6</i> 基因与结肠癌的发生	(116)
8.2 实践材料与方法	(117)
8.2.1 实践材料	(117)

8.2.2 实践方法	(117)
8.3 实践结果与分析	(128)
8.3.1 目的载体 <i>PKS-hCdc6-target-A(flag/3flag)</i> 的构建	(128)
8.3.2 <i>PKS-hCdc6-C-target-final-flag/3flag</i> 载体构建	(130)
8.3.3 目的载体与辅助载体的共转染与新型细胞系的筛选	(131)
8.4 实践体会	(132)
8.4.1 CRISPR/CAS 系统介导的免疫机理	(132)
8.4.2 影响小提中量质粒纯度的因素	(133)
8.4.3 影响质粒转染效率的因素	(134)
8.4.4 影响细胞传代效率的因素	(134)
8.4.5 结论	(135)
8.4.6 展望	(135)
8.5 小结	(135)
参考文献	(137)



1 基因电子克隆与初步生物信息分析基础实践

1.1 实践目的与知识背景

1.1.1 实践目的

- (1) 了解生物信息学的各大门户数据库网站以及其中的主要资源;
- (2) 了解主要数据库的内容及结构,理解各数据库注释的含义;
- (3) 能操作基本的 BLAST 程序并进行初步的生物信息学分析。

1.1.2 生物信息数据库

生物信息是一个学科领域,包含着基因组信息的获取、处理、存储、分配、分析和解释的所有方面。狭义的生物信息是对基因在细胞中的定位以及对分子功能和生物过程进行注解与分析,以期实现进一步的研究目的。

大规模测序是基因组研究的最基本任务,它的每一个环节都与信息分析紧密相关。从测序仪的光密度采样与分析、碱基读出、载体标识与去除、拼接与组装、填补序列间隙,到重复序列标识、读框预测和基因标注的每一步都是紧密依赖基因组信息学的软件和数据库的。因此,对相关数据库的了解及实现最基本的基因解析是本节实践方案实施的最终目的。

国际上权威的生物信息数据库包括:

- (1) 美国生物技术信息中心的 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)。
- (2) 欧洲分子生物学实验室的 EMBL (<http://www.embl-heidelberg.de/>)。
- (3) 日本遗传研究所的 DDBJ (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/>)。

三个数据库中的数据基本一致,仅在数据格式上有所差别,对于某个基因的查询,三个数据库的回馈结果保持一致,但版本信息可能不统一。大多数数据库中有部分物种的全部基因组序列、蛋白质序列,以及序列的注释信息(如图 1-1 所示),另外还可以检索文献、搜索相似序列、进行多序列比对等功能。数据库可以帮助研究者认识生物本质,了解生物分子信息的组织和结构,破译基因组信息,阐明生物信息之间的关系;或者改变传统研究方式,引进现代信息学方法,提高对生物的宏观认识;在医学上为疾病的诊断和治疗提供依据,为设计新药提供目的基因或蛋白。对数据库的熟练使用,是生物技术实践最基本的能力。

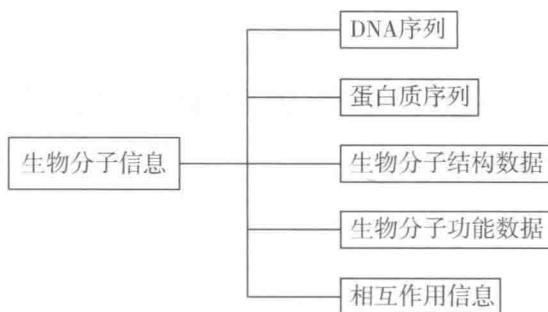


图 1-1 生物信息数据库基础内容

1.1.3 热休克蛋白 90

热休克蛋白 90 (heat shock protein 90, HSP90) 是生物进化过程中高度保守的胞质蛋白质, 占胞质蛋白的 1% ~ 2%。在高等真核生物中, HSP90 有 α 型和 β 型两种, 分别由 730 和 724 个氨基酸组成, 其同源性为 84%, 它们分别由不同的基因编码。

HSP90 以同源二聚体 α - α , β - β 形式存在于胞质中, α 型与 β 型的蛋白含量大致相等。HSP90 的 α 与 β 型通常为组成型表达, 应激状态下如高温、感染可诱导其生成增加, 并有少部分进入细胞核。HSP90- α 易受热诱导, 而 HSP90- β 易受有丝分裂诱导。近年发现 HSP90 与肿瘤的关系比较密切。HSP90- α 可通过调节细胞周期促进细胞增殖; HSP90- β 能够抑制细胞分化, 与 PGP (P2 glycoprotein) 的表达有关, 而该蛋白会将许多化疗药物阻挡在细胞之外, 这是癌细胞对化疗药物具有抗性的主要原因之一。本实践过程利用编码小鼠 HSP90- β 的 mRNA 基因编码序列电子克隆出人类 HSP90- β 新基因全长, 熟悉 NCBI 数据库中基本的基因搜索与其他在线分析工具的基本用法。

1.2 实践材料与方法

1.2.1 生物信息学数据库和软件

常用的生物信息学数据库和软件有: NCBI 网站提供并维护的 GenBank 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)、NCBI 网站提供的 BLAST 序列比对程序 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)、序列拼接的开源软件 (<http://seq.cs.iastate.edu/cap3.html>)、NCBI 网站提供的寻找开放阅读框的 ORF finder 在线程序 (http://www.bioinformatics.org/sms/orf_find.html)、核酸序列综合分析网上在线 GENSCAN 程序 (<http://genes.mt.teduh/GENSCAN.html>)、密码子使用偏性分析软件包 codonw (<http://mobyle.pasteur.fr/cgi-bin/portal.py?#jobs::codonw/>)、CpG 岛分析网上在线分析软件 cpgplot (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/emboss/cpgplot/>)、SSRs 位点网上在线

软件 (<http://www.fresnostate.edu/ssrfinder/>)、多序列比对核酸和蛋白质序列比对网上在线分析软件 ClustalW2 (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/>)、蛋白质三维空间结构在线预测网站 CPH (<http://www.cbs.dtu.dk/services/CPHmodels/>) 或 SWISS-MODEL (<http://www.swissmodel.expasy.org>)。

1.2.2 人类 *HSP90-β* 基因的电子克隆步骤

利用已知小鼠 *HSP90-β* 基因的 cDNA 序列作为种子序列, 在 NCBI 网站提供的 EST 序列库进行 Blast 检索。然后选取序列高度同源、长度相似的 EST 序列, 将这些序列保存在一个 FASTA 文件中, 提交到在线序列拼接程序上进行片段整合 CONTIG 分析, 延长 EST 序列。CONTIG 指拼接软件基于测序 reads 间的 overlap 区拼接获得的序列, 也叫重叠群。选取最长的 CONTIG 作为种子序列, 再次在 EST 序列库中进行 Blast 检索, 直到最长的 CONTIG 不能再被延伸为止。

1.2.3 人类 *HSP90-β* 基因的核酸和蛋白质序列分析

获得人类 *HSP90-β* 基因 cDNA 序列电子克隆后, 利用 ORF finder 程序预测人类 *HSP90-β* 蛋白的氨基酸序列; 利用 codonw、cpgplot 分别分析该基因的密码子使用的偏性和 CpG 岛; 利用 SSRIT 分析该基因的微卫星标记; 利用 ClustalW2 对牛和小鼠 IRAK21 蛋白的氨基酸序列进行序列同源性分析; 最后利用蛋白质三维空间结构预测网站 SWISS-MODEL 模拟蛋白质三维空间结构, 进一步分析人类 *HSP90-β* 蛋白的性质。

1.3 实践结果与分析

1.3.1 EST 数据库的检索结果

以小鼠 *HSP90-β* 基因的 mRNA (GenBank 收录号 NM_008302.3) 为信息探针, 在 NCBI 网站提供的牛 EST 数据库中进行 Blastn 检索。结果显示与信息探针有意义的同源性的 EST 序列有 100 条, 见图 1-2。

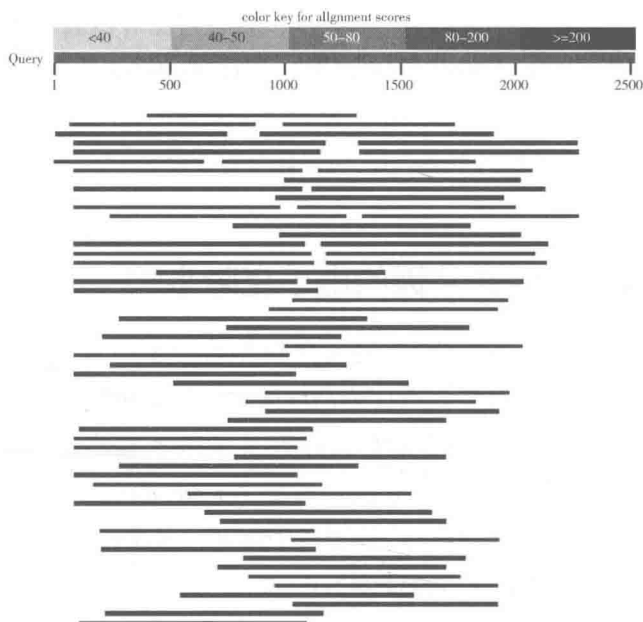


图 1-2 BLAST 探索结果

注：以鼠源 (Mus) *HSP90-β* mRNA 序列 (NM_008302.3) 为探针在 Homo EST 数据库中进行 BLAST 检索的结果。

1.3.2 人类 *HSP90-β* 基因电子克隆

将得分比较高的 100 条 ESTs 序列保存在一个 FASTA 文件里，提交到 CAP3 网上在线程序上进行拼接，得到 3 个 CONTIGs。选取其中一个最长的 CONTIG，其全长为 3611bp 的 cDNA 序列，见图 1-3。

```

1 aaatttgaa agtcattgc aaaaacattg ttaagaagtg cettgagctc ttcttgagc
61 tggcagaaga caaggagaat tacaagaaat tctatgagc attctctaaa aatctcaagc
121 ttggaatcca cgaagactcc actaacgcc gccgcctgtc tgagctgctg cgctatcata
181 cctcccagtc tggagatgag atgacatctc tctcagagta tctttctcgc atgaaggaga
241 cacagaagtc catctattac atcactggcg agagcaaaga gcaggctggc aactcagctt
301 ttgtggagcg agtcgcgaaa cgggcttcg aggttggtata tatgaccgag cccattgacg
361 agtactgtgt gcagcagctc aaggaatttg atgggaagag cctggtctca gttaccaagg
-----
3061 gacaagaatg ataaggcagt taaggacctg gtggtgctgc tgtttgaaac caccctgcta
3121 tctcttgctt ttcccttga ggaacccag acccactcca accgcactca tgcgatgac
3181 aagctaggtc tagtgattga tgaagatgaa gtggcagcag aggaacccaa tctcgcagtt
3241 cctgatgaga tccccctct cgaggcgcat gaggatcgct ctgcgatgga agaagtcgat
3301 taggttagga gttcatagtt ggaanaactg tgccttcta tagtgcctcc atgggtccc
3361 actgcagcct cgagtgcctc tgcctcact ggctccctct gctggtgtct agtgttttt
3421 tccctctctt gtccttgtgt tgaaggcagt aaactaaggg tgcaagccc cattccctct
3481 ctactcttga cagcaggatt ggaatgtgt tattgtggt tatttttatt tcttcatttt
3541 gttctgaat taaagtatgc aaaataaaga atatccgtt taaaaaaaa aaaaaaaaa
3601 aaaaaaaaa a
    
```

图 1-3 基因序列

注：电子克隆的人 *HSP90* 基因 cDNA 序列，从 94 开始到 3303 结束，虚线为省略显示的核酸序列。