

生命科学实验指南系列

# 现代分子生物学实验 原理与技术

陈德富 陈喜文 主编

 科学出版社  
[www.sciencep.com](http://www.sciencep.com)

生命科学实验指南系列

# 现代分子生物学实验 原理与技术

陈德富 陈喜文 主编

南开大学教材建设资助立项著作

科学出版社

北京

## 内 容 简 介

本书图文并茂、格式新颖、通俗易懂,是适应 21 世纪生命科学发展需要的现代分子生物学实验技术教材和参考书。全书共五篇三十章,包括分子生物学实验基本操作、DNA 相关实验、RNA 相关实验、基因表达及附录,介绍了广泛使用的现代分子生物学实验技术的基本原理、实验流程和注意事项。原理介绍在先,随后是详细的实验流程,最后是为巩固所学内容提出的思考题。在介绍原理和流程过程中,穿插一些实用的重点提示、试剂作用及可能出现的现象。本书所列流程都是作者研究室正在使用的、在教学中进行过实践的、切实可行的方法,符合国内条件。

本书可作为综合性大学和师范、医学、药学、农学等院校生物类专业本科生和研究生的分子生物学实验教学用书,也可作为生物类相关领域研究人员的参考书。

### 图书在版编目(CIP)数据

现代分子生物学实验原理与技术/陈德富,陈喜文主编.—北京:科学出版社,2006

(生命科学实验指南系列)

ISBN 7-03-016433-4

I. 现… II. ①陈…②陈… III. 分子生物学-实验 IV. Q7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 130383 号

责任编辑:莫结胜 彭克里 席 慧/责任校对:刘小梅

责任印制:钱玉芬/封面设计:耕者设计工作室

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>

双青印刷厂 印刷

科学出版社编务公司排版制作

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2006年2月第一版 开本:787×1092 1/16

2006年2月第一次印刷 印张:20

印数:1—3 000 字数:452 000

定价:40.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换<双青>)

主 编 陈德富 陈喜文

参加编写人员 (以姓氏汉语拼音为序)

陈飞雪 贾向东 马丽娜 钱文成

王绘砖 王维兰 杨 鹏 张宝珠

## 序

分子生物学是生命科学领域最重要的、发展最为迅速的学科之一，已成为推动生命科学持续发展的主要动力，有力地推动着复杂生命现象的研究与探索。同时，分子生物学中的实验技术对生物制药、生物制品、生物材料以及生物改良等相关产业的发展也产生了巨大的推动力。

教育是科学发展的基础，分子生物学实验技术的重要性决定了 21 世纪生命科学类青年学子必须掌握这一新兴技术。为适应这一要求，各高等院校先后为本科生和研究生开设了“分子生物学实验”这门课程。南开大学是最早开设“生物化学与分子生物学技术”、“基因操作原理与技术”、“分子生物学实验”等课程的院校之一。1997 年又增加了“分子生物学实验”的课时，扩大了授课对象，重新制定了新的课程体系，设置了新的教学内容，编写了与之相适应的新教材。教学实践证明，陈德富教授等结合自身多年教学与科研经验编写的《现代分子生物学实验原理与技术》是成功的，受到了学校的肯定和学生的欢迎，与国内有关书籍相比有许多独特性，尤其是以下两点：

第一，选材恰当。本书分五篇三十章，包括分子生物学基本操作、DNA 相关实验、RNA 相关实验、基因表达及附录，概括了广泛使用的现代分子生物学实验新技术。

第二，图文并茂。全书使用了近 300 幅插图，将分子生物学基本原理和技术流程形象地反映出来，使得本书通俗易懂。

该书是南开大学教材建设资助立项著作，相信本书的出版必将推动我国生物学、医学、药学、农学及其他相关学科的发展，必将为生命科学领域各相关专业本科生与研究生的学习提供帮助，该书也可作为相关领域研究人员的参考书。在此，我真诚推荐此书给广大读者。

耿运琪

南开大学副校长、教授

国务院学位委员会学科评议组成员

教育部生物科学与工程教学指导委员会委员

2005 年 8 月 3 日

# 前 言

分子生物学是在分子水平上研究生命结构与功能的科学，实验性强，其理论知识需要通过实验才能去验证、巩固与扩充。因此，分子生物学实验技术是一门重要的基础课，是新世纪高素质生物类人才必备技能之一，这一点从国内外各高校将“分子生物学实验”课程列为生物类专业重要基础课这一教学计划可以看出。

分子生物学实验技术的主要特点是：① 涉及面广，随着人类基因组计划的开展与深入，新技术层出不穷；② 实验过程看不见、摸不着；③ 所用仪器种类多、相对昂贵、操作复杂；④ 试剂种类多(大多为有活性的酶试剂)、用量少、价格昂贵。因此，选择重要且实用的、适应新世纪生物类人才培养特点的实验内容；制定一套既与国际接轨，又具特色、培养创新型学生的课程体系是我们高校“分子生物学实验”任课教师应尽的义务之一。同时，编写一本与之配套的实验指导教材也是我们高校有关教师义不容辞的责任。

目前国内外出版了许多以分子生物学技术为唯一内容的参考书，读者群非常大，经典著作隔几年就再版一次，如 *Molecular Cloning* 早已到了第三版，这些巨著主要是针对研究工作者编写的，不适合初学者使用。然而，针对教学编写的分子生物学实验教材很少，有些出版年代已久、技术陈旧，有些则因选材不恰当，也很少被高校选作教学用书。为了紧跟生命科学的发展，适应新时期高教改革的需要，围绕“高素质、宽口径、厚基础”的人才培养目标，提高教学水平和教学质量，我们尝试了一系列教学改革，提出了“分子生物学实验”应包括目的基因克隆和表达、目的蛋白质分离或酶学分析等一系列现代分子生物学实验技术的课程体系。在此课程体系基础上，编写了与之配套的讲义，编写的讲义在南开大学本科和研究生教学中经过了多年试用，取得了满意的效果。本书即是在原讲义的基础上重新编写而成，新的编写参考了分子生物学实验技术的最新发展，也考虑了研究人员需要。

全书共分五篇三十章，包括分子生物学基本操作、DNA 相关实验、RNA 相关实验、基因表达及附录。考虑到各层次、各专业学时数的不同，也考虑到初学者预习的需要，每个实验分别阐述其基本原理、实验流程、注意事项和思考题。原理介绍在先，采用图文并茂的方式详细叙述常见分子生物学研究技术的基本原理和操作；随后是详细的实验流程，中间穿插实验中的重点提示、试剂作用或可能出现的现象，初学者依此即可开展工作，并将获得满意结果；最后是为巩固所学内容提出的思考题。

本书所用的实验流程主要来自本研究室所用的方案，而且大多在教学中进行过实践，因此是可行的。本研究室所用实验流程参考了国内外有关著作、期刊论文及产品说明书，并根据需要经过一定的修改。本书在撰写时，使用了大量插图，这些插图或为本书原作，或参考了有关资料。考虑到实验流程和插图来源广泛，也考虑到修改后的流程或插图不完全忠实于原文，因此本书不一一列出文献出处。

本书由陈德富教授、陈喜文副教授主编，贾向东硕士、张宝珠工程师协助编写，陈

飞雪、马丽娜、郭少影、杨鹏、王维兰、王绘砖、钱文成等同志参与了部分章节的编写。耿运琪教授、刘方教授、刁虎欣教授为本书的编写提出过许多有益的建议，耿运琪教授还欣然为本书作序。在教材立项中，白艳玲副教授给予了很大帮助。本书的出版得到了南开大学教材建设项目的资助，得到了科学出版社莫结胜编辑的大力帮助。此一并表示衷心感谢。

在本书撰写过程中，我们力求不出或少出错误，但分子生物学实验技术的发展是迅速的，作者的学识和经验是有限的，加之科研工作繁重和时间紧迫，本书的疏漏和错误之处在所难免，恳请同行专家和读者批评指正。

陈德富 陈喜文  
南开大学分子遗传学研究室  
2005年7月8日

# 目 录

## 序 前言

### 第一篇 基本操作篇

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| <b>第一章 绪论</b> .....         | 2  |
| 第一节 基因操作技术 .....            | 2  |
| 第二节 实验室规则与安全 .....          | 5  |
| <b>第二章 仪器操作与溶液配制</b> .....  | 8  |
| 第一节 常用器皿与仪器 .....           | 8  |
| 第二节 溶液 .....                | 11 |
| <b>第三章 大肠杆菌培养与保存</b> .....  | 14 |
| 第一节 培养前准备 .....             | 14 |
| 第二节 大肠杆菌培养 .....            | 20 |
| 第三节 大肠杆菌菌株保存 .....          | 24 |
| <b>第四章 基因操作中的酶学反应</b> ..... | 27 |
| 第一节 常用酶的选购与保存 .....         | 27 |
| 第二节 限制性内切核酸酶 .....          | 28 |
| 第三节 限制性内切核酸酶消化 DNA 实验 ..... | 31 |
| 第四节 DNA 作图 .....            | 36 |
| 第五节 连接酶 .....               | 37 |
| 第六节 其他核酸酶 .....             | 39 |
| <b>第五章 电泳技术</b> .....       | 43 |
| 第一节 基本原理 .....              | 43 |
| 第二节 琼脂糖凝胶电泳 .....           | 45 |
| 第三节 从琼脂糖凝胶中回收 DNA .....     | 49 |
| 第四节 聚丙烯酰胺凝胶电泳 .....         | 53 |
| 第五节 从聚丙烯酰胺凝胶中回收 DNA .....   | 56 |

### 第二篇 DNA 篇

|                           |    |
|---------------------------|----|
| <b>第六章 DNA 基本操作</b> ..... | 60 |
| 第一节 DNA 保存 .....          | 60 |
| 第二节 DNA 检测 .....          | 61 |
| 第三节 DNA 浓缩 .....          | 62 |
| 第四节 DNA 纯化 .....          | 64 |



|   |     |
|---|-----|
| <b>第七章 扩增与提取质粒 DNA</b> .....            | 70  |
| 第一节 质粒有关基本知识.....                       | 70  |
| 第二节 质粒 DNA 提取.....                      | 71  |
| 第三节 质粒 DNA 纯化.....                      | 79  |
| <b>第八章 DNA 转化</b> .....                 | 83  |
| 第一节 制备感受态细胞.....                        | 83  |
| 第二节 转化.....                             | 87  |
| <b>第九章 扩增与提取噬菌体 DNA</b> .....           | 90  |
| 第一节 噬菌体生活史.....                         | 90  |
| 第二节 感染力测定.....                          | 90  |
| 第三节 噬菌体回收与繁殖.....                       | 91  |
| 第四节 提取噬菌体 DNA.....                      | 93  |
| <b>第十章 提取真核生物基因组 DNA 与构建基因组文库</b> ..... | 95  |
| 第一节 SDS/酚法提取基因组 DNA.....                | 96  |
| 第二节 试剂盒法提取基因组 DNA.....                  | 98  |
| 第三节 CTAB 法提取基因组 DNA.....                | 100 |
| 第四节 构建基因组 DNA 文库.....                   | 101 |
| <b>第十一章 PCR 基本操作</b> .....              | 103 |
| 第一节 PCR 基本原理.....                       | 103 |
| 第二节 引物设计.....                           | 104 |
| 第三节 耐热 DNA 聚合酶.....                     | 106 |
| 第四节 PCR 仪.....                          | 109 |
| 第五节 PCR 基本操作.....                       | 110 |
| 第六节 PCR 实例.....                         | 113 |
| 第七节 预防污染.....                           | 114 |
| 第八节 热启动.....                            | 115 |
| <b>第十二章 DNA 重组</b> .....                | 119 |
| 第一节 重组流程.....                           | 119 |
| 第二节 插入 DNA 的准备.....                     | 120 |
| 第三节 载体的准备.....                          | 120 |
| 第四节 连接.....                             | 123 |
| 第五节 插入 DNA 的修饰与改造.....                  | 123 |
| 第六节 转化.....                             | 132 |
| 第七节 重组子筛选.....                          | 133 |
| <b>第十三章 探针制备</b> .....                  | 137 |
| 第一节 探针标记法.....                          | 137 |
| 第二节 随机引物法.....                          | 138 |
| 第三节 末端标记法.....                          | 139 |
| 第四节 探针纯化.....                           | 143 |

|                    |     |
|--------------------|-----|
| 第十四章 PCR 产物克隆      | 146 |
| 第一节 PCR 产物重组策略     | 146 |
| 第二节 PCR 产物的纯化      | 146 |
| 第三节 末端平齐           | 147 |
| 第四节 TA 克隆          | 149 |
| 第五节 添加限制性内切核酸酶识别序列 | 151 |
| 第十五章 PCR 应用        | 154 |
| 第一节 菌落 PCR         | 154 |
| 第二节 简并引物 PCR       | 156 |
| 第十六章 Southern 印迹   | 158 |
| 第一节 DNA 酶切         | 158 |
| 第二节 琼脂糖凝胶电泳        | 159 |
| 第三节 变性、转膜与固定       | 161 |
| 第四节 杂交             | 165 |
| 第十七章 分子标记          | 170 |
| 第一节 微卫星标记          | 170 |
| 第二节 RFLP 与 RAPD    | 172 |
| 第十八章 DNA 序列测定与比对   | 176 |
| 第一节 测序原理           | 176 |
| 第二节 自动测序仪          | 177 |
| 第三节 DNA 序列的同源比对    | 180 |

### 第三篇 RNA 篇

|   |     |
|---|-----|
| 第十九章 RNA 提取                                   | 188 |
| 第一节 RNA 实验前的准备                                | 188 |
| 第二节 实验材料                                      | 190 |
| 第三节 用 AGPC 法提取 RNA                            | 195 |
| 第四节 用 NP-40 法提取 RNA                           | 197 |
| 第五节 使用试剂盒提取 RNA                               | 200 |
| 第二十章 纯化 poly(A) <sup>+</sup> RNA              | 203 |
| 第一节 利用 oligo(dT) 纯化 poly(A) <sup>+</sup> mRNA | 204 |
| 第二节 用 oligo(dT) · 纤维素进行柱层析                    | 206 |
| 第二十一章 构建 cDNA 文库                              | 210 |
| 第一节 以质粒为载体构建 cDNA 文库                          | 210 |
| 第二节 以 λ 噬菌体为载体构建 cDNA 文库                      | 215 |
| 第二十二章 RT-PCR                                  | 222 |
| 第二十三章 RACE                                    | 225 |
| 第一节 5' RACE                                   | 225 |
| 第二节 3' RACE                                   | 230 |

|       |             |     |
|-------|-------------|-----|
| 第二十四章 | 转录分析        | 231 |
| 第一节   | Northern 印迹 | 231 |
| 第二节   | RNase 保护分析  | 235 |

## 第四篇 表 达 篇

|       |                   |     |
|-------|-------------------|-----|
| 第二十五章 | 无细胞蛋白质合成          | 242 |
| 第一节   | 概述                | 242 |
| 第二节   | 大肠杆菌无细胞蛋白质合成系统    | 243 |
| 第三节   | 小麦胚芽无细胞蛋白质合成系统    | 247 |
| 第二十六章 | 大肠杆菌表达系统          | 254 |
| 第一节   | 表达载体结构            | 254 |
| 第二节   | 表达中的问题            | 256 |
| 第三节   | 表达实例与 SDS-PAGE 检测 | 257 |
| 第二十七章 | 枯草杆菌表达系统          | 261 |
| 第一节   | 菌株与载体             | 261 |
| 第二节   | 转化                | 261 |
| 第三节   | 蛋白质的提取            | 263 |
| 第二十八章 | 放线菌表达系统           | 264 |
| 第一节   | 菌株与载体             | 264 |
| 第二节   | 放线菌培养             | 264 |
| 第三节   | 转化                | 264 |
| 第四节   | 蛋白质的提取            | 265 |
| 第二十九章 | 酿酒酵母表达系统          | 267 |
| 第一节   | 酿酒酵母表达系统概述        | 267 |
| 第二节   | 外源基因在酿酒酵母表达系统中的表达 | 269 |
| 第三十章  | 毕赤酵母表达系统          | 274 |
| 第一节   | 宿主                | 274 |
| 第二节   | 重组                | 274 |
| 第三节   | 重组基因的表达           | 279 |

## 第五篇 附 录

|     |                                      |     |
|-----|--------------------------------------|-----|
| 附录一 | 储液配制                                 | 284 |
| 附录二 | 核酸及蛋白质数据                             | 291 |
| 附录三 | 各种识别位点的限制性内切核酸酶分类表                   | 294 |
| 附录四 | 部分限制性内切核酸酶需要的保护碱基                    | 295 |
| 附录五 | 筛选重组子用的平板标签贴纸( $\Phi = 9\text{cm}$ ) | 296 |
| 附录六 | 常用 DNA 相对分子质量标准物的琼脂糖凝胶电泳图像示意图        | 297 |
| 附录七 | 本书作为教材的使用方法                          | 298 |

# 第一篇 基本操作篇

确定实验目的和实验材料



确定实验方案



- 确定实验材料和试剂是否符合要求
- 确定实验材料和仪器是否可用
- 制定实验进度表



在记录本上记录实验流程



进行预实验以确定实验流程是否可行



开展正式实验

# 第一章 绪 论

## 第一节 基因操作技术

### 1. 基因操作技术

基因操作技术是在 DNA 水平上阐明生命现象的技术,又叫重组 DNA 技术、基因工程,包括 DNA 的“切”、“连”、“扩”等(图 1-1)。“切”指用限制性内切核酸酶切割 DNA,“连”指用 DNA 连接酶连接两个 DNA 片段,“扩”是指目的 DNA 在宿主/载体系统中进行扩增。

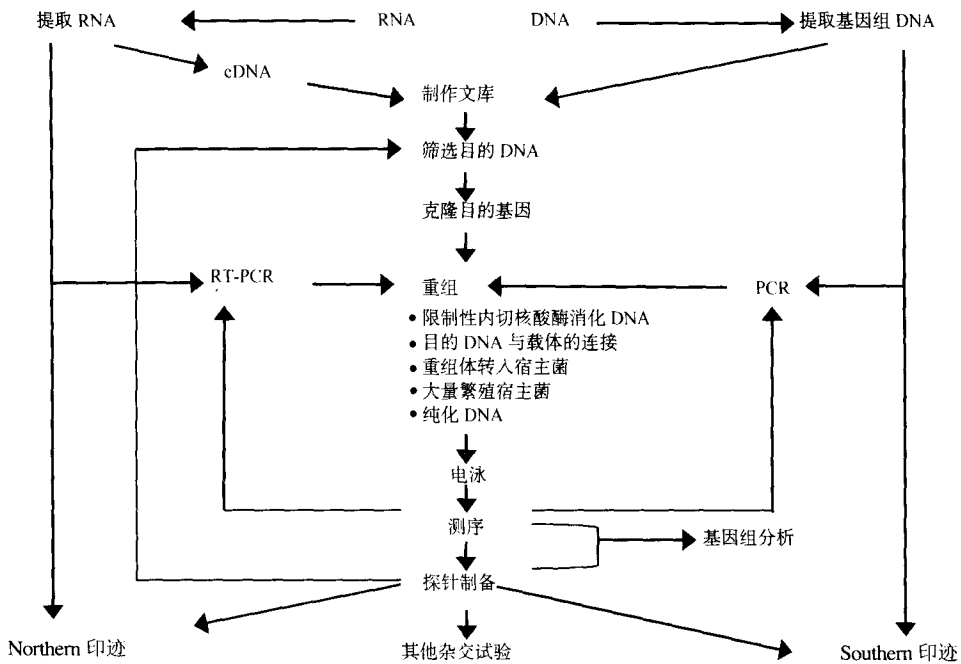


图 1-1 基因操作实验流程

### 2. 实验方案

基因操作实验的主要目的有 3 个:①分离目的基因,获取 DNA 信息;②分析基因结构;③分析基因功能。为达到这些目的,实验人员每天在实验室进行着许多不同的实验,然后根据实验结果进行总结,得出一个结论后本实验即告结束。由于实验目的不同,对于类似的反应(如酶切反应),也应设计不同的实验流程。首先,应确定使用怎样的研究方案;其次,根据实验规模和研究室情况,应确定怎样的实验流程;最后,根据研究人员的生活规律确定实验时间。这些基本方案在实验过程中可能会出现意想不到的

问题，因此有重新修改的可能。

### 3. 实验方法

有许多实验方案可完成设计的实验时，如何选择最合适的？应考虑以下几点(图 1-2)：①能否达到实验目的；②是否符合实验室的现状；③是否符合自己的喜好。

基因操作实验中使用的酶、同位素等试剂比较昂贵，若有性能相当的廉价商品，首先应选择廉价的商品，当然也可根据实验目的和经费状况考虑使用试剂盒，试剂盒在保证实验准确性方面有独特的优越性。

有些实验非常费时，如何安排时间就显得非常重要。在确定自己能用于实验的时间的基础上，也应在实验流程中注明可以暂停的步骤。例如，限制性内切核酸酶消化的 DNA 可以保存在乙醇中，也可以干燥保存。本书中的“过夜反应”步骤用“O/N”(over night) 标记。

本书列举的实验仪器、设备和材料等有可能与你的情况不完全符合，或本书列举了多个实验方案，你可以根据自己的具体情况或个人爱好做适当选择或修改，这也是在你确定具体实验方案时应予以注意的。

在确定详细实验计划后，还必须进行预实验，以确定实验材料、试剂、仪器、时间等是否符合你的设计。当一切就绪后，即可开展正式实验。

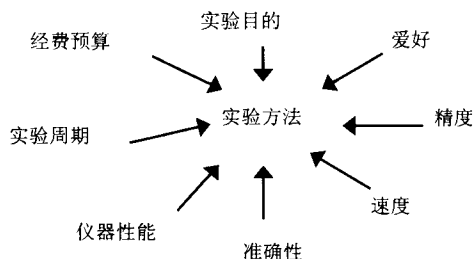


图 1-2 确定实验方法时应考虑的因素

### 4. 如何成为实验高手

有些人每天工作很忙，但实验总是失败，怎么也得不到漂亮的结果。如何成为高手？概括起来，应注意以下几点：①忠于实验流程；②关注实验要点；③准备充足的实验材料；④设平行对照实验；⑤准确的试剂用量；⑥数据整理。

(1) 第一次实验成功，但第二次实验马虎。第一次实验时，严格按照实验流程开展实验，但接下来总认为“我知道了”，“我会了”，而马虎行事，不再严格按实验流程进行实验，甚至更改实验流程，这些往往是实验失败的主要原因。标准的实验流程是经过许多实验者探索出来的，没有充足的理由，尽量不要更改。

(2) 实验精度。实验精度有 4 个层次：①必须严格按实验流程进行的操作；②较严格的操作流程、允许 5% 的变动；③允许 20% 变动的实验操作；④不需要特别注意的实验操作。在一系列实验过程中，要求按第 2 层次操作的实验流程只能按其规程开展实验(若按第 1 标准则更好)，不能放宽到第 3 层次，更不能放宽到第 4 层次。

(3) 酶促反应不顺利时，若加入更多的酶或 DNA，结果会愈来愈糟糕。这时有必要考虑实验材料或试剂中是否混入了反应抑制剂。商品酶或试剂中的稳定剂(如酶液中的甘油、TE 中的 EDTA 等)是酶促反应的抑制剂，应尽量减少它们的用量。

(4) 不设平行对照往往是实验失败的原因。在实验开始时，应有实验失败的忧虑。设平行对照可以发现实验失败的原因，如果实验准备得充足，马上就有保存的材料或试

剂进行第二次实验。

(5) 样品标记的零乱也往往是实验失败的重要原因。添加有样品或试剂的试管或其他器皿应工整地标明其内含物种类、日期等重要信息，而且这些信息应与实验记录本一致，这样，一段时间后能方便地找到你需要的样品。若标记零乱，错拿其他样品进行实验，肯定会失败。

## 5. 实验材料的准备

### 1) 购买

培养基、酶、DNA 及相关试剂盒等可方便地从商家那里购买到。对于昂贵的商品应慎重地了解情况后再决定购买。在购买试剂时，若发现与商品目录不符的产品应及时告知商家。

### 2) 利用公共服务机构

克隆 DNA 的载体或宿主菌(或细胞)，可以利用下列公共服务机构获取：

- (1) 中国普通微生物保藏管理中心(CCGMC) ([micronet.im.ac.cn/cgmcc/jianjie.html](http://micronet.im.ac.cn/cgmcc/jianjie.html))。  
中国科学院北京微生物研究所([www.ctccas.ac.cn/junzhong](http://www.ctccas.ac.cn/junzhong))：真菌、细菌。  
中国科学院武汉病毒研究所([www.whiov.ac.cn](http://www.whiov.ac.cn))：病毒。
- (2) 中国农业微生物菌种保藏管理中心(ACCC)([www.accc.org.cn](http://www.accc.org.cn))：农业微生物。
- (3) 林业微生物菌种保藏管理中心(CAF)([www.forestry.ac.cn/shs/wsw/wsw.html](http://www.forestry.ac.cn/shs/wsw/wsw.html))。
- (4) 中国工业微生物菌种保藏中心(CICC)([www.china-cicc.org](http://www.china-cicc.org))。
- (5) 抗菌素菌种保藏管理中心(CACC)。
- (6) 医学微生物菌种保藏管理中心(CMCC)。
- (7) 兽医微生物菌种保藏管理中心(CVCC)。
- (8) 美国标准菌种保藏所(ATCC)([www.atcc.org](http://www.atcc.org))。
- (9) 荷兰真菌中心收藏所(CBS) ([www.cbs.knaw.nl](http://www.cbs.knaw.nl))。
- (10) 英国国立标准菌种保藏所(NCTC) ([www.hpa.org.uk/srmd/div\\_cdmssd\\_nctc](http://www.hpa.org.uk/srmd/div_cdmssd_nctc))。
- (11) 法国里昂巴斯德研究所(IPL) ([www.pasteur.fr](http://www.pasteur.fr))。
- (12) 日本大阪发酵研究所(IFO)([www.jhsf.or.jp](http://www.jhsf.or.jp))。

### 3) 接受馈赠

实验材料尚未产业化，或自己不能制备时，也可通过信函寻求外单位馈赠(最近大多数人喜欢使用 E-mail，但垃圾邮件的泛滥，可能造成你的求助信被误删)。在求助信中，应清楚地告诉对方：你需要什么？发表相关材料信息的出处。若对方提出与你签订合同，应及时、真实地将有关信息告知对方，不能隐瞒什么，因为这种合同往往仅是为了督促个人的信誉，不存在商业行为。通常是向论文通信作者寻求帮助。图 1-3 是一封求助信的样式，供参考。写信的稿纸应是印有单位标志、名称、电话号码等信息的公函纸。若没有，则可以使用计算机自制。



Department of Genetics and Cell Biology  
 College of Life Sciences, Nankai University  
 94 Weijin Road, Tianjin 300071, P. R. China  
 Tel: 86-22-2350-xxxx  
 Fax: 86-22-2350-xxxx, E-mail: xxxx@nankai.edu.cn

Dr. B. B. Brown<sup>b</sup>  
 Department of Biology  
 Institute of Animal Physiology  
 123 Southwest 41 Street  
 New York  
 NY 12123-4567  
 USA

16th, November 2005

Dear Dr. Brown,

I have read, with interest, your 1990 J.Biol.Chem. paper on the isolation of cDNAs encoding liver-specific transcription factor LSTF-1. I am working on transcription factor in the mammary gland. We have identified a novel form of LSTF in the mammary gland. We have identified a novel form of LSTF in the mammary gland and are in the process of isolating cDNAs for LSTF-like factors. It would greatly facilitate my analysis if you could make your LSTF-1 clone available to me. Thank you in anticipation.

Yours sincerely,

*N. China*

Nankai China, Ph. D.<sup>c</sup>

a. 通讯地址按照单位的惯常写法。

b. 应写上对方的称呼,若知道对方是教授,最好写成 Prof. 或 Professor。

c. 注明学位或其他。

图 1-3 求助信样式

斜体部分的另一种写法①<sup>d</sup>

I therefore would very much appreciate if I could obtain a plasmid containing LSTF-1. The most suitable one for my purpose would be pBRLSTF-1 in your JBC paper. Of course, I would very much appreciate hearing from you soon and thank you very much in anticipation of your help.

斜体部分的另一种写法②<sup>e</sup>

It would be most helpful to have a LSTF-containing plasmid. Please do not hesitate to contact me if you would like more information. My fax number is (86)-22-3456-1234<sup>f</sup>. Thank you for your time.

d. 注明更详细的内容及表达不强迫的语气,下画线部分为通用语句。

e. 希望对方尽快给予回复。

f. 自己的传真号码可以不写国家代码。不要写城市区号前的0。

## 第二节 实验室规则与安全

### 1. 实验室规则

(1) 保持肃静。不许喧哗、打闹,创造整洁、安静、有序的实验环境。

(2) 保持整洁。实验时应穿工作服,书包等物品按规定放置整齐,不许随地吐痰。实验结束后,清洁器材和工作台,彻底清洗试管、烧杯等实验用品,物归原处,实验废品(如火柴棍、滤纸等)丢到指定地方,不得随意乱丢。

(3) 严格操作。认真预习,切忌盲目,做好准备,提高效率。实验时严格遵守操作



规程,仔细观察,做好记录,认真书写实验报告,不合格者必须重写。枪尖、滴管专用专放,以防交叉污染。使用仪器必须在教员指导下进行,不得随意乱动。使用微量移液器时,必须先熟读使用方法。玻璃器皿轻拿轻放。

(4) 注意节约。爱护标本、器材,节约试剂、水电,防止浪费。无故损坏酌情赔偿。

(5) 保证安全。室内严禁吸烟。用试管加热时,管口不能对着人。使用危险、有毒物品时严格按照要求操作,使用同位素时应注意防护和防止污染。如有意外立即报告实验室管理人员。实验完毕,做好地面清洁卫生,关好门、窗、水、电等。

## 2. 实验室常识

(1) 使用贵重仪器如分析天平、分光光度计、离心机、微量移液器,应十分谨慎,加倍爱护,使用前,应熟知使用方法。若有问题随时请示指导教师。使用时,要严格遵守操作规程,如遇试剂溅污仪器应及时用洁净纱布擦拭。发生故障时,应立即关机,告知实验室管理人员,不得擅自拆修。

(2) 凡挥发性、有烟雾、有毒和有异味气体的实验,均应在通风柜内进行。用后试剂严密封口,尽量缩短操作时间、减少外泄,操作者最好戴口罩、手套。凡见光易变质的试剂,应用棕色瓶储存,或用黑纸包裹,或每次少量配制。

(3) 配制试剂时,应对试剂纯度、结构式、分子质量等特性熟悉,做到“有的放矢”。用过的器皿应及时用自来水浸泡,以便于清洗和减少对器皿的侵蚀。取用试剂或溶液后,需立即将瓶盖盖严,并放回原处。取出的试剂或溶液,如未用尽,切勿倒回瓶内,以免掺混。

(4) 量瓶是量器,不要用量瓶作容器。称量试剂,应用硫酸纸,不可用滤纸。标签纸的大小应与容器相称,标签上要写明试剂名称、规格、浓度、配制日期及配制人,标签应贴在试剂瓶 2/3 高度处。

(5) 洗净器皿应倒置架上,使其自然干燥,不能用抹布擦拭。

## 3. 实验室安全

生物实验室里,经常与毒性很强、有腐蚀性、易燃烧或有爆炸性的化学药品及传染性病毒、细菌等直接接触,必须十分重视安全工作。

(1) 严格执行 2004 年 4 月 5 日审定通过、2004 年 10 月 1 日正式实施的,由中华人民共和国科学技术部和国家认证认可监督管理委员会提出、中国实验室国家认可委员会负责起草的《实验室生物安全通用要求》(GB 19489-2004)。该国家标准对生物安全分级、实验室设施设备的配置、个人防护和实验室安全行为等方面进行了若干规定,要求生物工作者严格按不同等级水平和评价标准进行操作。

(2) 了解电闸、水阀门、煤气总阀门所在处,离开实验室时,一定要将室内检查一遍,应将水电、煤气等关好,门窗锁好。

(3) 使用电器设备(如烘箱、恒温水浴锅、离心机、电泳仪等)时,严防触电,绝不可用湿手或在眼睛旁视时开关电闸或电器开关。检查电器设备是否漏电时,应将手背轻轻触及仪器表面,凡是漏电的仪器,一律不能使用。

(4) 使用高温高压锅灭菌时,不得离人。易燃、易爆、腐蚀、有毒等试剂,绝不能