

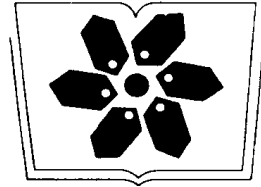
# 基因工程原理

第二版（上册）

吴乃虎 编著

科学出版社

Q78  
WNH



中国科学院科学出版基金资助出版

# 基因工程原理

上册

(第二版)

吴乃虎 编著



科学出版社

1999



A0294812

## 内 容 简 介

本书是在第一版的基础上,吸收了本学科的新进展,增加了大量的新内容,重新审订、编写而成。

全书共十二章,分上下两册,书末附有基因工程名词术语解释及索引。本书由三个有机联系的部分组成。第一部分论述基因工程赖以创立的理论及技术基础,重点介绍基因研究的发展及基因的现代概念;基因研究与基因工程的相互依赖关系;基因操作主要技术的基本原理;与基因克隆有关的一系列核酸酶的生化特性和在 DNA 重组中的应用等。第二部分由第四章至第八章组成,系本书的核心。它详细地叙述了基因工程学所涉及的主要内容,包括各类分子克隆载体的构建、特点与应用;基因文库的构建、目的基因的分离与鉴定;克隆基因的表达与调控以及真核基因在大肠杆菌中表达的原理、方法及实例等。第三部分即本书的后四章,主要论述基因工程实际应用方面的内容。它着重叙述高等植物及哺乳动物基因工程的研究目标、现状与进展,以及重组 DNA 技术在临床医学、农业生产、食品工业、化学制剂等若干重要领域的实际应用情况。

本书是一部有自己特色、体系新颖、基础理论与实际应用并重的基因工程学术专著。在内容的安排上注重科学性、先进性、系统性和条理性。它不仅对我国基因工程的教学与研究,而且对其它生物技术以及分子生物学、分子遗传学等学科的教学与研究都有很好的参考价值。本书可作为生物、农林、医学等专业的本科生、研究生及教师的教学用书,也可作为有关科研人员的参考书。

### 图书在版编目(CIP)数据

基因工程原理(上册)(第二版)/吴乃虎编著. —2版. —北京:科学出版社, 1998.3

ISBN 7-03-005931-X

I. 基… II. 吴… III. 基因-遗传工程-理论 N. Q78

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (97) 第 29550 号

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

\*

1989年10月第 一 版 开本:787×1092 1/16

1998年3月第 二 版 印张:26 1/4

1999年1月第四次印刷 字数:596 000

印数:5 761—8 760

定价: 38.80 元

谨以此书

献给母校北京大学百年华诞

(1898—1998)

## 第二版序言

本书自 1989 年出版以来,受到了广大青年读者的欢迎与厚爱,也得到了许多专家学者的赞扬与鼓励,虽经两次重印发行,仍供不应求,至今还经常有不少读者来信要求购买此书,或询问再版情况。国内不少高等院校都选择此书作为有关本科生及研究生的必读参考书。凡此种种都使作者受到了极大的鼓舞和鞭策,产生了进一步完善该书的念头。

然而自第一版问世迄今已将近 10 年,其间有关学科的发展异常迅速,先进的技术不断涌现,创新的成果层出不穷,整个基因工程的面貌已经发生了深刻的变化。考虑到这种情况,亦为了能够适时引进新的资料,反映新的动态,故决定重新撰写,作为第二版送交科学出版社出版。

近年来,美、英等国相继出版了相当数量的有关基因工程的论著及实验技术手册,国内亦有若干专著及译本问世。尽管这些著作各有特点,但不少版本往往过多地侧重于基因工程的具体方法和实验过程的描述,而相对地忽视了对基本原理的讲解。为此我们在尽可能吸收它们优点的同时,也充分地考虑到了我国的实际和有关专业人员知识结构的特点,着重加强了基本原理部分的叙述,并竭力将基因工程同分子生物学、分子遗传学及生物化学等基础学科有机地联系起来进行讨论,期望不同专业的学生都能方便地使用本书,广大读者能够获得较为系统全面的基因工程基础知识,以跟上该学科的发展进程。

本书第二版基本上保持了第一版的结构体系与写作风格,但鉴于目前学科发展的现状,因此补充了大量的新内容,不少地方完全是重新撰写的。此外,还遵照有关专家的建议,增加了 PCR 技术及基因工程在医疗卫生方面的应用等有关章节。结果本书的容量大为扩增,达百余万字。为方便读者使用起见,决定分上、下册装订。

在本书撰写过程中,作者参阅了大量的文献和著作,在积极吸收其精华的同时,还对已发现的相互矛盾的资料和数据作了认真的订正。在有关资料的编排与取舍方面,强调注重科学性、先进性、系统性和条理性,同时也努力反映国内学者的研究成果。我们的宗旨是,力求使本书能准确、全面、系统地反映本学科的历史与现状,形成一部有自己特色的、比较完整的基因工程基础学科论著。

我的夫人、北京大学生命科学学院细胞生物学系黄美娟副教授,不但全面照顾我的生活,还为本书资料的搜集、文稿的核对及索引的编排等,做了大量的实质性的工作。没有她的无私奉献,要完成如此艰巨的写作任务确实是难以想象的。任何语言都无法表达我对她的感激之情。

本书的出版得到了中国科学院科学出版基金和国家自然科学基金的资助,也得到了国家基金委生命科学部、中国生物工程开发中心及中国科学院发育生物学研究所有关领导的支持。本实验室全体人员热情关心本书的写作,特别是王丽霞和任东路小姐承担了繁重的文字录入任务;博森贝尔公司吴海东先生精心绘制了全书的插图。在此向他们表示衷心的感谢。

作者科研工作繁重,又限于知识结构和业务水平,独力编撰此书深感任务艰巨,责任

重大。因此,自动笔之日起,夜以继日,不敢稍懈,唯望以勤补拙,减少谬误。然而心有余而力不足,书中的缺点与错误难以避免,衷心希望广大的读者和专家指正、赐教,本人不胜感激。

吴乃虎

于中国科学院发育生物学研究所

植物发育分子生物学实验室

1997年12月16日

## 第一版序言

自从本世纪 70 年代初期基因工程学诞生以来,在不到 20 年的时间内,已经取得了许多激动人心的成就,并且正以新的势头继续向前迅猛发展,成为当今生物科学研究诸领域中最具生命力、最引人注目的前沿学科之一。

科学技术从来就是生产力。如同任何一门新科学新技术一样,基因工程学的出现,也给社会发展带来了深刻的影响,迫使工业、农业、医疗卫生事业以及生物科学研究本身,都面临一场空前的变革。其影响之深远、潜力之巨大,在目前我们是无法估量的。许多国家都已经把基因工程列为优先发展的高科技项目,我国政府也已制订了相应的对策。但是教育是发展科学的基础。今天,分子生物学和基因工程的发展,不但急需大批的专业人才,也要求培养足够的后备力量。为适应客观形势的发展,国内高等院校的有关系科,许多科学研究单位,都先后开设了基因工程专业和相应的课程,报考的本科生与研究生逐年增多。与此同时,一些出版机构也组织人力,相继翻译出版了若干专著。然而由于多方面的原因,到这些书籍出版之时,往往大部分资料都已经过时,况且其编写的体例与内容也不尽符合教学要求。显然,编写一部比较符合我国实际情况的基因工程教科书是必要的,适时的。

近年来,作者曾应邀在国内若干高校讲授“基因工程基本原理”课程,并陆续编写了一部分教材,本书就是在此基础上扩充而成的。目的是为生物、农林、医学专业的学生、研究生及从事生物科学研究的工作者提供一部比较全面系统的教学用书。考虑到某些专业学生的知识结构的实际情况,在内容上加重了有关基本原理部分的叙述,以使本书有较大的适应面,内容也不至于太快过时。

在编写过程中,我们参阅了大量的专著和文献,并对已发现的某些相互矛盾的资料或数据作了认真订正。我们也努力运用新的资料,反映新的成果,但对此没有过分追求,因为本书是按教科书的要求编写的,它有别于一般性的综述。另外,鉴于篇幅有限,书末仅列出最主要的一部分参考文献。对于登载在国内刊物中的有关文章,亦有所参阅,在此特向原作译者表示谢意。

北京大学生物学系黄美娟副教授参加了第八章及附录部分的编写工作,并为本书资料的收集与整理以及索引的编排等作了大量的工作;中国科学院史瀛仙教授和申同健教授,以及北京大学生物学系吴鹤龄教授和朱圣庚教授分别审阅了本书的有关章节;研究生张银华等协助准备了少部分资料;高等教育出版社宗小梅同志为本书绘制了全部插图,在此一并表示感谢。

在本书的出版和编写过程中,得到了中国科学院发育生物学研究所有关部门的领导和同志以及人民教育出版社副社长长安名勋同志的热情关心与支持。高等教育出版社朱秀丽同志担任本书的责任编辑,在编辑加工过程中对有的章节作了一些修收和补充,她为本书的出版付出了艰辛的劳动。

由于编者水平有限,加上时间仓促,书中肯定有不少的缺点与错误,欢迎各位同学及有关的专家、学者批评指正,并致诚挚的谢意。

吴乃虎

于中国科学院发育生物学研究所

1989年4月



# 目 录

第二版序言

第一版序言

<b>第一章 基因与基因工程</b> .....	(1)
<b>第一节 基因研究的发展</b> .....	(1)
1. 基因学说的创立 .....	(1)
2. 基因与 DNA 分子 .....	(3)
3. 基因与 DNA 的多核苷酸区段 .....	(5)
4. 基因与多肽链 .....	(6)
5. 基因的碱基顺序与蛋白质的氨基酸顺序 .....	(7)
6. 基因的结构 .....	(10)
7. 基因的表达与调控 .....	(12)
8. 基因的分​​离 .....	(14)
9. 基因的合成 .....	(16)
<b>第二节 基因的现代概念</b> .....	(17)
1. 移动基因 .....	(17)
(1) 插入序列 .....	(18)
(2) 转位子 .....	(20)
(3) 转位作用 .....	(21)
(4) 逆转位子 .....	(22)
2. 断裂基因 .....	(22)
(1) 断裂基因的发现 .....	(23)
(2) 间隔子位置的测定 .....	(23)
(3) 间隔子及表达子的一般特点 .....	(24)
(4) mRNA 初级转录本的剪辑 .....	(25)
3. 假基因 .....	(28)
(1) 重复的假基因 .....	(28)
(2) 加工的假基因 .....	(29)
4. 重复序列及重复基因 .....	(30)
(1) 唯一序列及低度重复序列 .....	(31)
(2) 中度重复序列 .....	(32)
(3) 高度重复序列 .....	(33)
5. 重叠基因 .....	(34)
<b>第三节 基因工程的诞生及其主要的研究内容</b> .....	(37)
1. 基因工程的诞生 .....	(37)
2. 基因工程的定义及其主要的研究内容 .....	(43)
3. 有关基因工程安全性的争论 .....	(44)
4. 重组 DNA 技术的应用与发展 .....	(47)

<b>第二章 基因操作的主要技术原理</b> .....	(51)
<b>第一节 核酸的凝胶电泳</b> .....	(51)
1. 基本原理 .....	(51)
2. 琼脂糖凝胶电泳 .....	(52)
3. 脉冲电场凝胶电泳 .....	(54)
<b>第二节 核酸分子杂交</b> .....	(55)
1. 萨瑟恩 DNA 印迹杂交 .....	(56)
2. 诺塞恩 RNA 印迹杂交 .....	(59)
3. 斑点印迹杂交和狭线印迹杂交 .....	(59)
4. 菌落(或噬菌斑)杂交 .....	(60)
<b>第三节 细菌转化</b> .....	(61)
1. 肺炎链球菌的转化 .....	(61)
2. 大肠杆菌的转化 .....	(62)
3. 细菌转化频率 .....	(62)
<b>第四节 DNA 核苷酸序列分析</b> .....	(64)
1. Sanger 双脱氧链终止法 .....	(65)
(1) Sanger 双脱氧链终止 DNA 测序法的原理 .....	(65)
(2) Sanger 双脱氧-M13 体系 DNA 序列分析法 .....	(67)
(3) Sanger 双脱氧-pUC 体系 DNA 序列分析法 .....	(69)
2. Maxam-Gilbert 化学修饰法 .....	(71)
(1) Maxam-Gilbert 化学修饰法的原理 .....	(71)
(2) 碱基特异的化学切割反应 .....	(71)
(3) Maxam-Gilbert 化学修饰-CS 载体系统 DNA 序列分析法 .....	(75)
(4) Maxam-Gilbert 化学修饰法的优点 .....	(76)
3. DNA 序列分析的自动化 .....	(76)
4. DNA 杂交测序 .....	(78)
(1) DNA 杂交测序原理 .....	(78)
(2) 固定 DNA 或寡核苷酸的矩阵芯片 .....	(79)
(3) 杂交的检测 .....	(80)
(4) SBH 的应用 .....	(81)
<b>第五节 基因的化学合成</b> .....	(82)
1. 基因化学合成的概况 .....	(82)
2. 磷酸二酯法合成寡核苷酸 .....	(82)
3. 磷酸三酯法合成寡核苷酸 .....	(83)
4. 固相亚磷酸三酯法合成寡核苷酸 .....	(85)
5. 用寡核苷酸片段组装基因的方式 .....	(85)
6. 寡核苷酸化学合成的实际用途 .....	(87)
(1) 作为合成基因的元件 .....	(87)
(2) 作为核苷酸序列分析的引物 .....	(88)
(3) 作为核酸分子杂交的探针 .....	(88)
(4) 用于基因定点诱变研究 .....	(88)
(5) 作为 PCR 扩增反应的引物 .....	(89)

(6)作为重组 DNA 连接构件 .....	(89)
<b>第六节 基因定点诱变 .....</b>	<b>(89)</b>
1. 盒式诱变 .....	(89)
2. 寡核苷酸引物诱变 .....	(92)
(1)寡核苷酸引物诱变原理 .....	(92)
(2)寡核苷酸引物诱变过程 .....	(93)
(3)寡核苷酸引物诱变法的局限性 .....	(95)
(4)提高寡核苷酸引物突变效率的办法 .....	(95)
3. PCR 诱变 .....	(97)
(1)重组 PCR 定点诱变法 .....	(97)
(2)大引物诱变法 .....	(99)
<b>第七节 基因扩增 .....</b>	<b>(99)</b>
1. PCR 技术的基本原理及特点 .....	(100)
2. Taq DNA 聚合酶 .....	(103)
3. 寡核苷酸引物 .....	(105)
(1)引物的长度 .....	(105)
(2)简并引物 .....	(106)
(3)嵌套引物 .....	(107)
4. PCR 技术的研究应用 .....	(107)
(1)基因组克隆 .....	(107)
(2)反向 PCR 与染色体步移 .....	(107)
(3)不对称 PCR 与 DNA 序列测定 .....	(108)
(4)RT-PCR 与 RNA 分析 .....	(110)
(5)基因的体外诱变与突变的检测 .....	(112)
(6)基因组的比较研究 .....	(112)
<b>第八节 研究 DNA 与蛋白质相互作用的方法 .....</b>	<b>(113)</b>
1. 凝胶阻滞试验 .....	(114)
2. DNaseI 足迹试验 .....	(114)
3. 甲基化干扰试验 .....	(117)
4. 体内足迹试验 .....	(119)
<b>第三章 基因克隆的酶学基础 .....</b>	<b>(121)</b>
<b>第一节 核酸内切限制酶与 DNA 分子的体外切割 .....</b>	<b>(122)</b>
1. 寄主控制的限制与修饰现象 .....	(122)
2. 核酸内切限制酶的类型 .....	(124)
3. I 型和 III 型核酸内切限制酶的基本特性 .....	(128)
4. II 型核酸内切限制酶的基本特性 .....	(129)
(1)基本特性 .....	(129)
(2)同裂酶 .....	(130)
(3)同尾酶 .....	(131)
(4)限制片段末端的连接作用 .....	(131)
5. 核酸内切限制酶的命名法 .....	(133)
6. 影响核酸内切限制酶活性的因素 .....	(134)

(1)DNA 的纯度 .....	(134)
(2)DNA 的甲基化程度 .....	(134)
(3)酶切消化反应的温度 .....	(135)
(4)DNA 的分子结构 .....	(135)
(5)核酸内切限制酶的缓冲液 .....	(136)
7. 核酸内切限制酶对 DNA 的消化作用 .....	(136)
(1)核酸内切限制酶与靶 DNA 识别序列的结合模式 .....	(136)
(2)核酸内切限制酶对 DNA 分子的局部消化问题 .....	(136)
(3)核酸内切限制酶对真核基因组 DNA 的消化作用 .....	(137)
<b>第二节 DNA 连接酶与 DNA 分子的体外连接 .....</b>	<b>(137)</b>
1. DNA 连接酶 .....	(138)
2. 粘性末端 DNA 片段的连接 .....	(140)
3. 平末端 DNA 片段的连接 .....	(141)
(1)同聚物加尾法 .....	(141)
(2)衔接物连接法 .....	(144)
(3)DNA 接头连接法 .....	(146)
4. 热稳定的 DNA 连接酶 .....	(150)
(1)寡核苷酸连接测定法 .....	(150)
(2)连接酶链式反应(LCR) .....	(150)
<b>第三节 DNA 聚合酶 .....</b>	<b>(153)</b>
1. DNA 聚合酶 I 与核酸杂交探针的制备 .....	(153)
(1)DNA 聚合酶 I .....	(153)
(2)DNA 缺口转移 .....	(156)
(3)DNA 杂交探针的制备 .....	(157)
2. 大肠杆菌 DNA 聚合酶 I 的 Klenow 片段与 DNA 末端标记 .....	(158)
3. T4 DNA 聚合酶和取代合成法标记 DNA 片段 .....	(160)
4. 依赖于 RNA 的 DNA 聚合酶与互补 DNA 的合成 .....	(161)
5. T7 DNA 聚合酶 .....	(163)
6. 修饰的 T7 DNA 聚合酶 .....	(163)
<b>第四节 DNA 及 RNA 的修饰酶 .....</b>	<b>(164)</b>
1. 末端脱氧核苷酸转移酶与同聚物加尾 .....	(164)
2. T4 多核苷酸激酶与 DNA 分子 5'-末端的标记 .....	(165)
3. 碱性磷酸酶与 DNA 脱磷酸作用 .....	(167)
<b>第五节 核酸外切酶 .....</b>	<b>(169)</b>
1. 核酸外切酶 VII(exoVII) .....	(169)
2. 核酸外切酶 III(exoIII) .....	(169)
3. $\lambda$ 核酸外切酶( $\lambda$ exo)和 T7 基因 6 核酸外切酶 .....	(171)
<b>第六节 单链核酸内切酶 .....</b>	<b>(171)</b>
1. S1 核酸酶与 RNA 分子定位 .....	(171)
2. Bal31 核酸酶与限制位点的确定 .....	(173)
<b>第四章 基因克隆的质粒载体 .....</b>	<b>(176)</b>
<b>第一节 质粒的一般生物学特性 .....</b>	<b>(176)</b>

1. 质粒 DNA .....	(176)
2. 质粒 DNA 编码的表型 .....	(178)
3. 质粒 DNA 的转移 .....	(180)
(1)质粒的类型 .....	(180)
(2)F 质粒 .....	(180)
(3)质粒 DNA 的接合转移.....	(181)
4. 质粒 DNA 的迁移作用 .....	(183)
5. 质粒 DNA 的复制类型 .....	(185)
6. 质粒的不亲和性 .....	(186)
(1)质粒的不亲和性现象 .....	(186)
(2)质粒不亲和性的分子基础 .....	(187)
<b>第二节 质粒 DNA 的复制与拷贝数的控制 .....</b>	<b>(189)</b>
1. 质粒 DNA 复制的多样性 .....	(189)
2. ColE1 质粒 DNA 复制的启动 .....	(190)
3. 质粒 DNA 拷贝数的控制 .....	(190)
(1)天然质粒拷贝数的控制 .....	(190)
(2)杂种质粒拷贝数的控制 .....	(191)
4. 质粒复制控制的分子模型 .....	(191)
(1)抑制蛋白质稀释模型 .....	(191)
(2)自体阻遏蛋白质模型 .....	(193)
<b>第三节 质粒 DNA 的分离与纯化 .....</b>	<b>(194)</b>
1. 氯化铯密度梯度离心法 .....	(195)
2. 碱变性法 .....	(196)
3. 微量碱变性法 .....	(196)
4. 影响质粒 DNA 产量的因素 .....	(198)
(1)寄主菌株的遗传背景 .....	(198)
(2)质粒的拷贝数及分子大小 .....	(199)
<b>第四节 质粒载体的构建及类型.....</b>	<b>(199)</b>
1. 天然质粒用作克隆载体的局限性 .....	(199)
2. 质粒载体必须具备的基本条件 .....	(200)
3. 质粒载体的选择记号 .....	(202)
4. 不同类型的质粒载体 .....	(203)
(1)高拷贝数的质粒载体 .....	(203)
(2)低拷贝数的质粒载体 .....	(204)
(3)失控的质粒载体 .....	(204)
(4)插入失活型的质粒载体 .....	(205)
(5)正选择的质粒载体 .....	(205)
(6)表达型的质粒载体 .....	(207)
<b>第五节 重要的大肠杆菌质粒载体.....</b>	<b>(208)</b>
1. pSC101 质粒载体 .....	(208)
(1)应用 pSC101 质粒作基因克隆载体的实例——葡萄球菌质粒基因在大肠杆菌中的表达 .....	(209)

(2)应用 pSC101 质粒作基因克隆载体的实例二——在大肠杆菌中克隆非洲爪蟾 DNA .....	(211)
2. ColE1 质粒载体 .....	(211)
3. pBR322 质粒载体 .....	(214)
(1) pBR322 质粒载体的构建 .....	(214)
(2) pBR322 质粒载体的优点 .....	(216)
(3) pBR322 质粒载体的改良 .....	(219)
(4)应用 pBR322 质粒作为基因克隆载体的实例——水稻叶绿体光诱导基因 psbA 的结构分析 .....	(220)
4. pUC 质粒载体 .....	(221)
(1) pUC 质粒载体的结构 .....	(221)
(2) pUC 质粒载体的优点 .....	(223)
5. 其它重要的质粒载体 .....	(224)
(1)丧失迁移功能的质粒载体 .....	(224)
(2)能在体外转录克隆基因的质粒载体 .....	(225)
(3)穿梭质粒载体 .....	(227)
<b>第六节 质粒载体的稳定性问题</b> .....	(229)
1. 质粒载体不稳定性的类型 .....	(229)
(1)结构的不稳定性 .....	(229)
(2)分离的不稳定性 .....	(230)
2. 影响质粒载体稳定性的主要因素 .....	(230)
(1)新陈代谢负荷对质粒载体稳定性的效应 .....	(230)
(2)拷贝数差度对质粒载体稳定性的影响 .....	(232)
(3)寄主重组体系对质粒载体稳定性的效应 .....	(232)
3. 随机分配的分子机理 .....	(233)
(1)通过精巧的控制环路使质粒拷贝数的差度限制在最低的水平 .....	(234)
(2)通过位点特异的重组作用消除天然质粒的寡聚体 .....	(234)
(3)通过调节细胞的分裂活动阻止无质粒细胞的产生 .....	(234)
(4)大肠杆菌素的合成增进了质粒的稳定性 .....	(234)
4. 主动分配的分子机理 .....	(235)
(1)分配区的结构与功能 .....	(235)
(2)预配对模型 .....	(236)
(3)二聚体的解离有助于质粒的主动分配 .....	(237)
(4)寄主致死功能对质粒稳定性的效应 .....	(238)
<b>第五章 噬菌体载体和柯斯载体</b> .....	(240)
<b>第一节 噬菌体的一般生物学特性</b> .....	(240)
1. 噬菌体的结构及其核酸类型 .....	(240)
2. 噬菌体的感染性 .....	(240)
3. 噬菌体的溶菌生命周期 .....	(242)
4. 噬菌体的溶源生命周期 .....	(243)
(1)若干有关的基本概念 .....	(243)
(2)溶源周期的主要特征 .....	(244)

(3)超感染免疫性 .....	(245)
(4)溶源噬菌体的诱发 .....	(246)
5. 重组噬菌体的分离 .....	(247)
第二节 $\lambda$ 噬菌体载体 .....	(248)
1. $\lambda$ 噬菌体的分子生物学概述 .....	(249)
(1) $\lambda$ 噬菌体基因组的结构 .....	(249)
(2) $\lambda$ 噬菌体 DNA 的复制 .....	(251)
(3) $\lambda$ 噬菌体 DNA 的整合与删除 .....	(251)
(4) $\lambda$ 噬菌体 DNA 的转录与转译 .....	(252)
2. $\lambda$ 噬菌体载体的构建及其主要类型 .....	(253)
(1) 构建 $\lambda$ 噬菌体载体的基本原理 .....	(253)
(2) $\lambda$ 噬菌体载体的主要类型 .....	(255)
(3) 凯伦噬菌体载体 .....	(258)
3. $\lambda$ 噬菌体载体的改良 .....	(260)
(1) $\text{Spi}^-$ 正选择的 $\lambda$ 噬菌体载体 .....	(260)
(2) 具有体内删除特性的 $\lambda$ 噬菌体载体 .....	(262)
4. $\lambda$ 重组体 DNA 分子的体外包装 .....	(266)
(1) $\lambda$ 重组体 DNA 分子的转染作用 .....	(266)
(2) $\lambda$ DNA 的体外包装 .....	(267)
(3) $\lambda$ 噬菌体 DNA 的包装限制问题 .....	(269)
5. $\lambda$ 重组噬菌体的成熟 .....	(269)
6. $\lambda$ 重组体分子的选择方法 .....	(270)
(1) $cI$ 基因功能选择法 .....	(270)
(2) $lacZ$ 基因功能选择法 .....	(270)
(3) $\text{Spi}^-$ 选择法 .....	(271)
7. 克隆在 $\lambda$ 噬菌体载体上的外源基因的表达 .....	(271)
第三节 柯斯质粒载体 .....	(272)
1. 柯斯质粒载体的构建 .....	(272)
2. 柯斯质粒载体的特点 .....	(273)
3. 柯斯克隆 .....	(274)
4. 柯斯克隆的改良 .....	(276)
(1) Ish-Horowicz-Burke 柯斯克隆方案 .....	(276)
(2) Bates-Swift 柯斯克隆方案 .....	(278)
(3) 其它的柯斯克隆方案 .....	(279)
第四节 单链 DNA 噬菌体载体 .....	(280)
1. M13 噬菌体的生物学特性 .....	(281)
2. M13 克隆体系 .....	(284)
(1) $\beta$ -半乳糖苷酶显色反应原理 .....	(284)
(2) M13 载体系列的发展 .....	(286)
(3) M13 载体系列的优点 .....	(290)
3. 噬菌体展示载体 .....	(293)
第五节 噬菌粒载体 .....	(296)

1. 噬菌粒载体的概念 .....	(296)
2. pUC118 和 pUC119 噬菌粒载体 .....	(297)
(1)pUC118 和 pUC119 噬菌粒载体的复制模式 .....	(298)
(2)pUC118 和 pUC119 噬菌粒载体的优点 .....	(299)
(3)pUC118 和 pUC119 噬菌粒载体的克隆程序 .....	(301)
3. pBluescript 噬菌粒载体 .....	(301)
(1)体外转录载体 .....	(301)
(2)pBluescript 噬菌粒载体的结构特征 .....	(302)
(3)pBluescript 噬菌粒载体的体外转录 .....	(303)
<b>第六章 基因的分离与鉴定 .....</b>	<b>(305)</b>
<b>第一节 DNA 克隆片段的产生与分离 .....</b>	<b>(308)</b>
1. 基因组 DNA 的片段化 .....	(308)
(1)利用限制酶片段化基因组 DNA 的一般问题 .....	(308)
(2)基因组 DNA 的双酶消化策略 .....	(309)
2. DNA 片段的大小分部 .....	(309)
3. 编码目的基因的克隆片段的富集 .....	(310)
<b>第二节 重组体 DNA 分子的构建及导入受体细胞 .....</b>	<b>(310)</b>
1. 外源 DNA 片段同载体分子的重组 .....	(312)
(1)外源 DNA 片段定向插入载体分子 .....	(312)
(2)非互补粘性末端 DNA 分子间的连接 .....	(312)
(3)最佳连接反应 .....	(314)
2. 重组体分子导入受体细胞的途径 .....	(316)
(1)重组体 DNA 分子的转化或转染 .....	(317)
(2)体外包装的 $\lambda$ 噬菌体的转导 .....	(318)
<b>第三节 基因克隆的实验方案 .....</b>	<b>(319)</b>
1. 互补作用基因克隆 .....	(321)
2. cDNA 基因克隆 .....	(322)
(1)cDNA 文库的构建 .....	(322)
(2)不同丰度 mRNA 的 cDNA 克隆 .....	(327)
(3)全长 cDNA 合成 .....	(331)
(4)cDNA 克隆的优越性 .....	(334)
3. 基因组 DNA 克隆 .....	(335)
(1)应用 $\lambda$ 噬菌体载体构建基因组文库 .....	(336)
(2)应用柯斯质粒载体构建基因组文库 .....	(337)
4. 基因定位克隆 .....	(340)
(1)拟南芥菜简介 .....	(341)
(2)RFLP 分子标记 .....	(342)
(3)RFLP 作图的原理与步骤 .....	(342)
(4)染色体步移 .....	(344)
(5)大尺度基因组物理图谱的构建 .....	(345)
<b>第四节 克隆基因的分离 .....</b>	<b>(350)</b>
1. 应用核酸探针分离克隆的目的基因 .....	(352)



(1)核酸探针的来源 .....	(352)
(2)寡核苷酸探针的人工合成 .....	(353)
(3)假阳性克隆的克服 .....	(353)
2. 应用差别杂交或扣除杂交法分离克隆的目的基因 .....	(356)
(1)差别杂交 .....	(356)
(2)差别杂交的局限性 .....	(358)
(3)扣除杂交 .....	(358)
3. 应用 mRNA 差别显示技术分离克隆的目的基因 .....	(359)
(1)mRNA 差别显示的原理 .....	(361)
(2)mRNA 差别显示实验的基本过程 .....	(362)
(3)mRNA 差别显示法的局限性 .....	(362)
4. 应用表达文库分离克隆的目的基因 .....	(364)
5. 酵母双杂交体系 .....	(365)
(1)酵母双杂交体系的基本原理 .....	(365)
(2)酵母双杂交体系的寄主菌株及质粒载体 .....	(365)
(3)酵母双杂交体系的实验程序 .....	(368)
<b>第五节 重组体分子的选择与鉴定</b> .....	<b>(369)</b>
1. 遗传检测法 .....	(370)
(1)根据载体表型特征选择重组体分子的直接选择法 .....	(370)
(2)根据插入序列的表型特征选择重组体分子的直接选择法 .....	(374)
2. 物理检测法 .....	(375)
(1)凝胶电泳检测法 .....	(375)
(2)R-环检测法 .....	(375)
3. 菌落或噬菌斑杂交筛选法 .....	(375)
4. 免疫化学检测法 .....	(376)
(1)放射性抗体检测法 .....	(378)
(2)免疫沉淀检测法 .....	(380)
(3)表达载体产物之免疫化学检测法 .....	(380)
5. DNA-蛋白质筛选法 .....	(382)
6. 转译筛选法 .....	(382)
(1)杂交抑制的转译 .....	(382)
(2)杂交选择的转译 .....	(384)
<b>索引</b> .....	<b>(385)</b>