第一图书网, tushu007.com

<<基因克隆与操作>>

图书基本信息

书名：<<基因克隆与操作>>

13位ISBN编号：9787030274380

10位ISBN编号：7030274385

出版时间：2010-5

出版时间：科学

作者：克里斯托弗·豪

页数：188

版权说明：本站所提供下载的PDF图书仅提供预览和简介，请支持正版图书。

更多资源请访问：http://www.tushu007.com

前言

自本书第一版出版以来，基因克隆和操作的领域已发生了很大的变化，我在第二版中进行的修订反映了这种进展。
PCR方法的应用已得到了极大的发展，在许多生物中都可以用到“组学”和反向遗传学的技术，一些成熟的领域也取得了很大的进步，如用于表达蛋白质的宿主和载体，以及使用荧光蛋白作为报告基因。
像在第一版中那样，我已尽量强调有关我们所用载体的基本原理，并尽量避免使用长长的、详细的列表（从任何角度来看，这些列表都很快就会过时）。
由于认识到了设计针对各种实验状态的适当策略的必要性，我增加了最后一章，给出了一些实例和建议。
感谢我实验室的成员，当为了完成此版本（我的众所周知的“兴趣巨著”）而不得不推迟其他工作时，他们耐心地等待。
我要特别感谢那些以各种方式给予直接帮助的人，特别是Mim Bower、Jon Burton、Ellen Nisbet、Saul。Purton、Beatrix Schlarb-Ridley和Petrusde Vries。
我也要感谢剑桥大学出版社的KatrinaI-Ialliday和Clare Georgy，以及Keyword集团的Peter Lewis和Rasika Mathur，感谢他们的技术专长、耐心和鼓励。

内容概要

本书作者克里斯托弗·豪是剑桥大学植物与微生物生物化学专业的教授，教授分子生物学达20年。
本书是对第一版的完全更新，反映了基因克隆和操作领域最新的进展，对重组DNA技术进行了全面而简洁的介绍：首先阐释了生物化学的基本原理；然后介绍了PCR以及使用大肠杆菌宿主和质粒、噬菌体和杂合载体进行克隆；之后介绍了文库的构建和筛选，以及如何对克隆化序列进行改造、灭活和表达；最后讨论了在许多其他生物中进行的遗传操作，包括细菌、真菌、藻类，以及植物、昆虫和哺乳动物。
本书是为要使用重组DNA技术的高年级本科生、研究生和科研工作者而作，重点放在特定类型克隆载体上，以帮助读者理解并能够在新的实验状态下提出适当的策略。
本书还介绍了一系列“现实的”生物学问题，以使读者能够评估自己对知识的理解并准备考试。

<<基因克隆与操作>>

书籍目录

译者序第二版前言第一版前言第1章　工具　1.1　前言　1.2　切割　1.3　修饰　1.4　连接　1.5　转化　1.6　从大肠杆菌中纯化质粒DNA　1.7　核酸的凝胶电泳　1.8　寡核苷酸合成　1.9　微阵列第2章　聚合酶链反应　2.1　基本技术　2.2　预防措施和缺点　2.3　改良第3章　简单克隆　3.1　基本实验　3.2　载体、转化和宿主　3.3　修饰　3.4　接头、衔接子和序列盒第4章　用于大肠杆菌的其他载体系统　4.1　前言　4.2　BAC载体　4.3　M13噬菌体载体　4.4　入噬菌体　4.5　黏粒　4.6　Mu噬菌体　4.7　P1噬菌体第5章　文库构建　5.1　前言　5.2　基因组文库　5.3　cDNA文库　5.4　专业文库第6章　文库筛选　6.1　前言　6.2　数据库筛选　6.3　编码功能的实验筛选　6.4　其他功能的筛选：报告基因第7章　改造与诱变　7.1　前言　7.2　基于限制性内切核酸酶的方法　7.3　寡核苷酸定向诱变　7.4　选择正确的突变　7.5　灭活基因第8章　克隆化DNA的应用　8.1　作为DNA使用　8.2　RNA的合成　8.3　蛋白质的合成　8.4　体外翻译　8.5　体内表达　8.6　研究基因功能：报告基因和标签第9章　使用其他生物　9.1　前言　9.2　细菌　9.3　酿酒酵母　9.4　其他真菌　9.5　藻类　9.6　维管植物　9.7　细胞器转化　9.8　秀丽隐杆线虫　9.9　昆虫　9.10　哺乳动物第10章　实例　10.1　前言参考文献索引

章节摘录

从凝胶中回收材料（通常是DNA）通常很有用，当要从一种消化物中克隆一个特定的限制酶切片段时，需要使用凝胶将目标片段与其他DNA分开，然后从凝胶中回收用于克隆的片段。
回收方法有以下几种，目前第一种方法是最常用的。
1.溶解或消化凝胶。
如果凝胶是用低熔点琼脂糖制成的，那么我们只需要切下含有目标DNA的胶条，通过加热熔化凝胶介质即可。
用促溶剂处理或用琼脂水解酶消化能够溶解熔点较高的凝胶。
一旦凝胶被溶解，就可以通过适当的溶剂提取或使用硅石纯化来回收DNA。
2.扩散。
从凝胶上切下含有待回收DNA的胶条，将其碾碎，在缓冲液中浸泡几个小时，则大多数的DNA从凝胶中扩散出来，然后用过滤或离心的方法除去凝胶。
3.冷冻一挤压（freeze_squeeze）。
从凝胶上切下含有DNA的胶条，在液氮中冷冻，这样可以破坏凝胶的结构，然后离心通过玻璃棉填料，填料阻止凝胶通过，但能够使液体（含有溶解的DNA）通过。
4.电洗脱。
有几种涉及电洗脱的技术，这里列举三种。
a.从凝胶上切下胶条，密封到含有缓冲液的透析袋中，继续进行电泳，DNA离开凝胶，但被截留在透析袋内的缓冲液中。
b.在紧挨着目标DNA下方的凝胶上切一个槽，充入缓冲液，继续电泳，DNA从凝胶中出来，进入含有缓冲液的槽中，可以用移液器从槽内取出DNA。
c.将一片适当的膜插入紧挨着DNA的凝胶中，继续电泳，DNA粘到膜上，取出膜，用适当的溶液洗下DNA。
DEAE纤维素膜就是一种合适的膜，用高盐缓冲液洗涤可以从该膜上洗下DNA。
……

第一图书网, tushu007.com

版权说明

本站所提供下载的PDF图书仅提供预览和简介，请支持正版图书。

更多资源请访问:http://www.tushu007.com