

<<RNA研究方法>>

图书基本信息

书名：<<RNA研究方法>>

13位ISBN编号：9787030306234

10位ISBN编号：7030306236

出版时间：2011-4

出版时间：科学出版社

作者：法雷尔 编

页数：760

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>

<<RNA研究方法>>

内容概要

这部成功的实验指导书的第四版，记录了核糖核酸研究的最新历程，扩充收集了经检验的、分离和鉴定真核与原核RNA的实验方案。

本书将重点放在整体的转录物分析上，包括定量实验和鉴定可变剪接的起始位点，提供了RNA研究中方案选择的清晰概念。

本书各章为学生和研究者提供了清晰易掌握的课程，以使实验的产出最优化：读者也可选取感兴趣的方案，而不失连续性。

书中丰富的流程图、图表和代表性数据在研究项目的计划、实施和评价阶段都特别有用。

<<RNA研究方法>>

书籍目录

前言

1 重温RNA和细胞生物化学

为什么研究RNA?

RNA是什么?

多核苷酸的装配

RNA的种类

转录和中心法则

研究转录的重要动植物模型

启动子和调控元件

基因和基因组的组织影响转录

RNA聚合酶和转录产物

信使RNA

典型的mRNA分子的拓扑学

5'帽

引导序列

编码区

尾随序列

多聚A尾

细胞器mRNA

mRNA的稳定性、转运和转归

双顺反子mRNA

原核mRNA

mRNA的序列和结构影响翻译

基因调控的水平

来自单基因座的mRNA的可变剪接

反式剪接:mRNA的修复

小RNA综观

微小RNA对基因表达的调控

参考文献

2 分离RNA的策略

概述

纯化RNA过程中的目标

裂解缓冲液配方

温和的裂解缓冲液

方案:用低渗裂解分离胞质RNA

离液性裂解缓冲液

用含胍的缓冲液分离RNA

胍-酸-酚抽提技术

方案:胍-酸-酚抽提

密度梯度离心

氯化铯

方案:氯化铯梯度

三氟乙酸铯

方案:三氟乙酸铯梯度

同时分离RNA和DNA

<<RNA研究方法>>

方案:同时分离RNA和DNA

说说试剂盒

硅胶的技术

用硅胶柱分离胞质RNA

亲和介质

其他方法

方案:用十二烷基硫酸钠和乙酸钾试剂快速分离RNA

方案:分离原核RNA

方案:分离酵母RNA

提纯的RNA的短期和长期保存

参考文献

3 关于组织的真相

概述

组织培养物还是组织?

细胞培养的优点

组织样品的优点

匀浆法

用Polytron捣碎

用Dounce匀浆器匀浆

BeadBeaterTM技术

各种器官和组织的RNA分离的策略

新鲜组织

冻存组织

固定的组织

方案:分离组织RNA的LiCl-尿素法

方案:从富含类脂样品分离RNA

与聚核糖体结合的mRNA的提纯

方案:聚核糖体mRNA的分离

在野外收集样品

RNA“清洗”法

从组织分离RNA的困难解决

参考文献

4 走向绿色:植物RNA及其分子生物学

概述

RNA的分离和植物的怪异点

植物细胞产生的RNA的种类

方案:从叶中分离RNA

方案:从树皮中分离RNA

方案:从果实中分离RNA

从其他植物组织分离RNA的策略

从植物组织分离RNA的困难解决

参考文献和建议阅读

5 带PolyA尾的RNA的分离

概述

加PolyA尾

利用Poly(A)时的注意事项

例1

<<RNA研究方法>>

例2

选择带PolyA尾的分子

用于提纯Poly(A)的磁珠技术

Oligo(dT)-纤维素柱层析

方案:大量Poly(A)RNA的提纯

不用柱的快速Poly(A)提纯

方案:不用柱的Poly(A)提纯

参考文献

6 RNA制品的质量控制

概述

质控技术1:紫外分光光度法和光吸收比

分光光度法

核酸浓度的测定

核酸纯度的测定

非分光光度法

质控技术2:RNA的电泳图

方案

质控技术3:紫外光投影

方案

质控技术4:样品支持RT-PCR的能力

质控技术5:Northern分析

质控技术6:样品支持体外翻译的能力

参考文献

7 棘手的核糖核酸酶

概述

核糖核酸酶活力的去除

潜伏的RNase污染问题

核糖核酸酶抑制剂的种类

专一抑制剂

氧钒核糖核苷络合物

RNasin

非专一抑制剂

仪器和试剂的准备

焦碳酸二乙酯

代替剂:灭菌水

过氧化氢

氢氧化钠和十二烷基硫酸钠

控制核酸酶活力用的其他试剂

盐酸胍

硫氰酸胍

十二烷基硫酸钠

N-十二烷基肌氨酸

酚 氯仿 异戊醇

8-羟基喹啉

氯化铯

三氟乙酸铯

蛋白酶K

<<RNA研究方法>>

“RNAlater”(商品名)

方案:氧钒核糖核苷络合物的合成

参考文献

8 严谨度:影响核酸结构的条件

双链分子的种类

控制严谨度的重要性

盐对严谨度的影响

pH对严谨度的影响

温度对严谨度的影响

甲酰胺对严谨度的影响

尿素对严谨度的影响

参考文献

9 RNA电泳

概述

核酸的标准化

样品制备

方案:Poly(A)的标准化

琼脂糖凝胶电泳的RNA变性系统

甲醛变性

方案:甲醛变性胶

尿素变性

方案:尿素变性

乙二醛、二甲基亚砷变性

方案:RNA的乙二醛化和电泳

用非变性胶跑RNA电泳

分子量标准

分子大小标准的恰当应用

核糖体RNA

凝胶染色技术

溴乙锭

SYBR绿

SYBR金

安全SYBR

“GelStar”染色剂

银染色

吖啶橙

亚甲基蓝

安全考虑和仪器维护

第一次跑琼脂糖电泳:一些提示

基本词汇表

要牢记的几点

参考文献

10 照相记录和影像分析

概述

安全第一

数字影像分析

影像格式

<<RNA研究方法>>

实际的考虑

适用于任何预算的数字影像分析

影像分析学习班

磷屏显像仪

传统的照相记录方法

样品显影

滤光

将电泳图谱最优化的几点提示

照相底片和X光片的内在局限性

参考文献和建议阅读

11 Northern分析

概述

滤膜的选择

硝酸纤维素膜

尼龙膜

聚偏二氟乙烯膜

处理和滤膜准备

Northern转移技术

毛细管转移

“ TurboBlotter ” 转移器

负压转移

电转移

碱性转移

方案:利用被动的毛细管扩散转移RNA

方案:用TurboBlotter向下转移RNA

滤膜转移后的处理

甲醛变性系统

乙二醛变性系统

选择1

选择2

固定化技术

烘烤

紫外光交联

方案:用紫外光把RNA交联在尼龙膜上

滤膜固定后的处理

逆Northern分析

参考文献

12 核酸探针技术

概述

探针的分类

选择标记系统

同位素标记

尽可能避免分解问题

非同位素标记

通用染料Cy3和Cy5

常用的化学发光方式

生物素

<<RNA研究方法>>

洋地黄苷原
荧光素
直接酶标记
DNA探针
DNA探针的合成
聚合酶链式反应
随机引物反应
缺口转移
5'末端标记
3'末端标记
反义RNA探针
RNA探针的特征
RNA探针的合成
体外转录
5'末端标记
3'末端标记
探针的纯化
探针的保存
参考文献
13 核酸杂交的实践
概述
影响杂交动力学和双链稳定性的因素
温度
离子强度
pH
探针长度
探针浓度
G+C含量
错配
探针复杂度
粘度
甲酰胺
尿素
杂交温度
长探针的熔点温度
寡核苷酸探针的熔点温度
杂交和Northern分析
预杂交:滤膜的准备
方案:长探针预杂交
探针变性
杂交
杂交后的严谨度洗涤
除去探针和重杂交
方案:除去探针的通用方法
参考文献
14 检出的原理
概述

<<RNA研究方法>>

放射自显影

滤膜的处理

X光片

安全灯

曝光时间

增感屏

荧光显影

胶片预闪光

片匣的种类

显影和定影

方案:放射自显影

非同位素方法

生物素

洋地黄苷原

荧光显影

直接酶标

用化学发光检出

化学发光的底物

显色检出方法

数字影像系统

参考文献

15 用抗核酸酶技术定量特定的mRNA

概述

基本方法

探针的选择

最优化建议

潜在困难

方案:用S1核酸酶分析定量转录物

方案:用抗核糖核酸酶检验定量转录物

困难解决

参考文献

16 核RNA的分析

概述

转录速率的检验

与稳态RNA研究的关系

核Run-off与核Run-on检验

方案:核Run-off检验

细胞的收获和细胞核的制备

制备易破细胞核的另一方法

从整块组织制备细胞核的另一方法

转录物的标记和回收

靶DNA的制备

杂交用RNA的制备

杂交后的洗涤和检出

方案:核Run-off检验的另一方法

方案:抗核酸酶检验脉冲标记转录检验

区分各种RNA聚合酶的活力

<<RNA研究方法>>

提取核RNA用于稳态分析

方案:直接分离核RNA

方案:从富含核糖核酸酶的细胞中制备核RNA

核RNA分析的困难解决

参考文献

17 cDNA合成

概述

cDNA合成——概论

合成第一链的考虑

逆转录酶的选择

合成第二链的考虑

经典方法

基于PCR的方法

方案:第一链cDNA合成

评估cDNA合成的效率

克隆cDNA

连接的考虑

用于连接的酶

应用

参考文献

18 逆转录PCR:一种科学和技术形式

概述

PCR——概论

逆转录PCR——一般研究

PCR样品间污染的防止

实验室的设计

程序方法

阻挡气溶胶的窍门

尿嘧啶-N-糖苷酶

引物设计

基本规则

T_m的考虑

估计T_m;

T_m的精确计算

网上资源

多重引物的设计

最优化手续

热稳定聚合酶

正对照

负对照

热启动PCR

锁定的核酸

降落PCR

内对照

关于转录调控

PCR产物的分析

逆转录PCR质量控制的注意点

<<RNA研究方法>>

验证来自PCR的数据的非PCR方法

相关技术

5'RACEPCR

5'RLM-RACE

3'RACE-PCR

巢式PCR

长距离PCR

单细胞PCR

发夹式接头PCR

猎取可变转录起始位点

方案:第一链cDNA合成

方案:cDNA的PCR扩增

克隆PCR产物

方案:把平头PCR产物加A尾

方案:TA克隆的连接反应

“拓扑”克隆

其他扩增方法

RNA的线性扩增(Eberwine过程)

链替换扩增

基于核酸序列的扩增(NASBA)

连接酶链式反应

参考文献

19 定量PCR技术

概述

灵敏度指数

定量研究

实时PCR

实时PCR平台

SYBR绿检验

TaqMan^{&sup>}</sup>检验

分子信标

“LUX”牌引物

“蝎子”引物

熔点曲线分析

内对照

外对照

对照反应的设置方式

负对照的考虑

竞争PCR:关键的考虑

竞争PCR:所包括的主要步骤

另一方法:非实时竞争PCR

方案:竞争PCR

非同源竞争物的合成

第1链cDNA的合成

竞争PCR(一级扩增)

竞争PCR(二级扩增)

影像分析的考虑

<<RNA研究方法>>

定量PCR技术的困难解决

参考文献

20 功能基因组学和转录物总体分析

概述

功能基因组学的定义

功能基因组学研究方法的重要性

常用的功能基因组学研究方法

功能基因组学和经典分子生物学

21 基因表达的高通量分析

概述

什么是微阵列?

什么是热图*?

微阵列能做什么?

微阵列不能做什么?

微阵列分析的主要步骤

参考RNA

宏阵列是什么?

应用

参考文献

22 整体分析基因表达的非阵列方法

概述

基本问题

消减方法

抑制性消减杂交(SSH)

困难解决

非消减方法

mRNA差别显示

各种方案

参考文献

23 RNA干扰:Dicer酶在RISC复合物中起作用*

概述

RNAi的基本名词

RNA干扰——它如何工作

siRNA方法

shRNA方法

将siRNA导入哺乳动物细胞的方法

miRNA

siRNA的有效设计

RNAi和转录物可变剪切

体外和体内问题

RNAi的确认

RT-PCR方法

Northern杂交分析

Western杂交分析

应用

参考文献

24 基因组、转录组、蛋白质组和生物信息学

<<RNA研究方法>>

概述
基本名词
基因组和基因组学
转录组和转录组学
蛋白质组和蛋白质组学
生物信息学
搜索基因——BLAST一下!
参考文献
25 RNA一例
一个典型实验?
灵敏度问题
下一步做什么
到哪儿去求助
尾声
几粒智慧之珠
附录A 保留完整准确的记录
附录B 把质量转换为摩尔
附录C 对分子生物学家有用的储存液
附录D 酚的制备
附录E 溴乙锭和SYBR绿溶液的弃去
附录F 用DNase I从RNA样品中除去DNA
附录G 用RNase保温从DNA样品中除去RNA
附录H 甲酰胺、甲醛和乙二醛的去离子
附录I 硅化离心管和玻璃器具
附录J 贴壁细胞的胰酶处理方案
附录K 盐析法分离高分子量DNA
附录L 电泳:原理、参数和安全
附录M 聚丙烯酰胺凝胶电泳
附录N 点杂交分析
附录O 离心是分子生物学家的主流工具
附录P 仪器和试剂供应商及服务选登
附录Q 有用的国际单位制单位
附录R 常用缩写
附录S 商标摘录
术语表
索引

<<RNA研究方法>>

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>