

<<流式细胞术操作规程>>

图书基本信息

书名：<<流式细胞术操作规程>>

13位ISBN编号：9787509156742

10位ISBN编号：7509156742

出版时间：2012-11

出版时间：霍利 (Teresa S. Hawley)、霍利 (Robert G. Hawley)、邵启祥 人民军医出版社 (2012-11出版)

作者：(美) Teresa S.Hawley Robert G.H

页数：300

译者：邵启祥

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>

<<流式细胞术操作规程>>

前言

自20世纪40年代以来,流式细胞术已经发展成为一门涉及激光技术、流体动力学、电子学、光学、计算机科学、物理学、化学、生物学和数学多学科交融的科学技术。

近年来,仪器的革新,小型低能量的激光器的发展,新的荧光素和荧光蛋白的发现,以及新的方法学的应用都对高速发展的流式细胞术的应用起了很大的促进作用。

在流式细胞术操作规程完全修订和反映最新成果技术的第2版中,领衔的科学家们将那些已被时间证明的、前沿的关键性技术准确无误地展示给我们。

编者期望最新权威性的流式技术方法汇集的本书不仅能够成为经验丰富流式细胞仪使用者的有价值的参考手册,而且也能对生物学和生物医学科学领域的新手们起到有效的指导作用。

在流式细胞仪介绍一章中,作者从流式细胞术历史开始到对该技术将来的展望结束,为我们概括地描述了流式细胞术全貌和各种不同的应用。

第2至22章包括了实用性很强的详细的操作程序和最新的技术。

实验设计的详细介绍,实用的设计技巧,试剂和数据分析工具的选择使得研究者不仅能够将流式技术应用于传统的表型特征分析,而且完全能应用于新出现的基因组学和蛋白组学的研究。

为了使操作规程更加完善,作为补充,本书在第23和24章中前瞻性地介绍了应用未来一代的固体激光在高速分选中防止感染性气溶胶形成的快速方法。

在本书中介绍了一种最新的基于颜色的细胞设门策略,该策略使复杂的多参数资料的分析变得更加简单明了。

流式细胞仪复杂的多参数描述最好地证明了在以功能为基础的分子机制的研究可以在单细胞水平进行。

这是采用高度特异性抗体,通过鉴别磷酸化蛋白和非磷酸化蛋白来测定细胞内激酶信号级联反应的完美展示;结合免疫表型分型,可以解释在异质性群体中个体细胞独立的生物化学信号事件。

其他的操作规程是有关T细胞亚群特征分析的如:细胞内细胞因子染色可以应用于对罕见的抗原特异性T细胞的定量;四聚体细胞示踪染料可以和细胞因子染色技术相结合,确定抗原特异性细胞前体细胞的增殖频数;抗原特异性细胞毒性T细胞的细胞溶解功能,也可以通过采用非核素标记的方法,测定包括不同谱系来源的原代细胞在内的靶细胞内的半胱天冬酶的活化。

同时,也阐述了分析凋亡的多种方法,如同时分析半胱天冬酶活化、annexin V结合膜磷脂酰丝氨酸残基以及DNA染料穿膜对DNA染色等方法。

我们在本书中向试图涉猎干细胞领域的研究者推荐一些检测干细胞备选的方法。

有两种方法可以检测造血干细胞向胞外释放活细胞染料Hoechst 33342和罗丹明123的能力。

由于这些方法避免了确认细胞表面抗原,因此,被广泛地应用于缺乏确定的细胞表面抗原的其他类型的干细胞。

第三种方法可以用来研究人造血干细胞表面CD34抗原的生物学作用。

原代细胞如造血干细胞十分容易转导外源性基因,因而便于进行细胞研究。

来源于水母的绿色荧光蛋白(GFP)和来源于珊瑚虫的GFP的类似物是这类研究常用的标记物。

与其他的生物发光标记物不同的是,GFP和GFP相关蛋白发生荧光时不需要外源性底物或者协同因子。

此外,本书还介绍了一些同时检测多种荧光蛋白质的方法。

采用荧光激活细胞分选仪(FACS)分离细胞是一种非常有效的分离技术。

FACS采用微阵列技术将有助于加速对复杂组织和器官中不同类别细胞基因表达的分析。

对于这些技术的最新进展,我们在微阵列和杂交技术一章节中做详细的讨论,当然,其中也包括一些检测活细胞内生物分子间相互作用的创新性方法。

荧光共振能量转移(FRET)技术是利用GFP的二种光谱变量来确定蛋白质相关的分子。

将相关的蛋白与GFP构成融合蛋白,使以前因抗体限制而不能采用FRET检测的蛋白也能采用FRET检测,同时发明了两种利用FACS高通量特点研究新蛋白间相互作用的方法。

第一个方法是哺乳动物的蛋白质-蛋白质交互作用圈套(MAPPIT)技术,这是用来筛选复杂cDNA文

<<流式细胞术操作规程>>

库中新蛋白间相互作用的一种双杂交检测方法；第二个方法是采用流式细胞术快速从酵母菌表面展示文库分离特异性抗原克隆。

通过展示酵母菌表面的单链抗体（scFv），不需要通过亚克隆、表达和scFv纯化即可进行克隆的亲和力筛选，且可以通过FACS快速分选出亲和力最高的克隆。

在其他的章节中，从事基础和临床的科研工作者会看到一些用于细胞周期非同步群体分析，确定DNA倍体、RNA含量和肿瘤细胞增殖状态的方法。

书中还介绍了以FRET为基础的测定HIV-1病毒颗粒与初始T细胞融合的方法，这是一种原位的流式细胞染色体杂交检测技术（flow-FISH），可用于检测细胞老化和恶性化过程中端粒长度的改变，是较复杂的末端限制性片段Southern杂交方法的改良方法。

这种方法还适合于研究其他病毒胞膜蛋白介导的病毒与细胞的融合。

对于有兴趣研究微生物的科研工作者，本书介绍了用于微生物研究的敏感的流式细胞改良检测技术和微生物特异性检测方法学的进展。

在细菌多参数流式细胞术分析一章中，介绍了采用流式细胞术检测生理状态下革兰阳性和革兰阴性菌的可靠方法。

实现了期待已久的多参数微生物的分析。

我们非常感谢John Walker邀请我们参与这项令人兴奋的工作，同时十分感谢他提供了专业的编辑帮助。

感谢所有编者的真情投入，他们自愿分享各自最新研究结果的合作精神感染着整个流式细胞术学术界。

。

<<流式细胞术操作规程>>

内容概要

《流式细胞术操作规范》是国际上针对流式细胞术操作的权威著作，是应用流式细胞术进行科研和临床诊断数十年经验的总结。

《流式细胞术操作规范》分为24章，详细阐述了流式细胞术每一项操作的材料、用品、方法、注意事项，并配有插图近200幅，图文并茂，内容实用，适于应用相关技术的科研和临床人员阅读参考。

<<流式细胞术操作规程>>

作者简介

作者：（美国）霍利（Teresa S.Hawley）（美国）霍利（Robert G.Hawley）译者：邵启祥

<<流式细胞术操作规程>>

书籍目录

第1章流式细胞术介绍 1概述 2细胞（或粒子或事件） 3激发光 4应用流体学：细胞通过激光束 5细胞信号 6从信号到数据 7从数据到报告 8分选 9结论 第2章细菌的多参数流式细胞分析 1概述 2材料 3方法 4注释 第3章白细胞的多参数数据的采集和分析 1概述 2材料 3方法 4注释 第4章激酶信号级联放大的流式细胞分析 1概述 2材料 3方法 4注释 第5章细胞因子的流式细胞术分析 1概述 2材料 3方法 4注释 第6章利用细胞示踪染料检测抗原特异性T细胞前体增殖的频数 1概述 2材料 3方法 4注释 第7章采用流式细胞术评估淋巴细胞介导的细胞毒作用 1概述 2材料 3方法 4注释 第8章采用流式和影像细胞术多参数分析细胞凋亡 1概述 2材料 3方法 4注释 第9章通过边缘群细胞表型检测和富集造血干细胞 1概述 2材料 3方法 4注释 第10章Hoechst 33342和Rhodamine 123染色分析造血干细胞特征 1概述 2材料 3方法 4注释 第11章外周造血池动员的CD34NEG造血前体细胞表型和功能分析 1概述 2材料 3方法 4注释 第12章荧光报告蛋白的多参数流式细胞术 1概述 2材料 3方法 4注释 第13章荧光蛋白表达细胞的流式细胞术分析 1概述 2材料 3方法 4注释 第14章联合应用流式细胞术和基因芯片方法检测转录谱 1概述 2材料 3方法 4注释 第15章荧光共振能量转移的流式细胞分析 1概述 2材料 3方法 4注释 第16章以荧光激活细胞分选技术为基础的哺乳动物蛋白—蛋白相互作用陷阱系统的建立 1概述 2材料 3方法 4注释 第17章流式细胞术筛查酵母菌表面展示文库 1概述 2材料 3方法 4注释 第18章基于荧光共振能量转移的HIV—1病毒的融合分析 1概述 2材料 3方法 4注释 第19章非同步化细胞群体的细胞周期分析 1概述 2材料 3方法 4注释 第20章实体瘤DNA含量分析 1概述 2材料 3方法 4注释 第21章DNA和RNA的同步流式分析 1概述 2材料 3方法 4注释

<<流式细胞术操作规程>>

章节摘录

版权页：插图：Hawley等曾经描述了采用合适的载体和转染方法应用于哺乳动物细胞培养，并在进一步的工作证实可以用流式细胞术四色法区分表达CFP、GFP、YFP和DsRed的混合细胞群。此项研究中应用逆转录病毒的载体成功表达FP，该载体中FP编码序列为受长末端重复（LTR）启动子控制，一个可选标签则在内部的核糖体进入位点（IRES）控制之下。重组逆转录病毒载体颗粒由单嗜性无辅助包装细胞系GP+E-86产生，并进一步从转染细胞中获得表达各种FPs的稳定细胞系。

Hara等应用标准转基因方法，获得了表达GFP的转基因鼠。

该GFP是受控鼠胰岛素I启动子，这种转基因鼠胰脏的细胞是强荧光的。

分离的胰脏细胞也可以用重组腺病毒转染获得表达GFP的胰岛细胞。

本实验中，将分离的细胞培养2d后转染病毒，使其表达GFP，再用胰蛋白酶—EDTA处理以获得单细胞悬液。

人们已应用类似的方法来转染分离的细胞，可以使特定类型细胞表达FPs。

例如，Keyoung等用含有重组基因的腺病毒转染分离的人胎儿脑细胞，以来自nestin和muhashi 1基因的启动子/增强子序列调控腺病毒内的GFP表达。

在这些不同的启动子/增强子序列控制下，这些基因和GFP的表达可以定义胎脑脑室发育中的重叠区域。

另一种病毒转染的方法—DNA转染也被应用到鉴定特殊的细胞类型中。

Roy等描述了构建脂质体介导转染分离的白质细胞的方法，在该方法中利用2'，3'—环核苷酸3'—磷酸二酯酶基因的早期（P2）启动子调节GFP表达。

但该方法的一个可能不利因素是转染后（6~7d）需要一段相当长的培养时间，才能观察较多大量表达GFP的细胞。

对于高等植物，有很多方法可用来定义复杂混合物内的细胞类型。

根据有无叶绿素可以定义树叶中的叶肉和表皮细胞，基于这个参数能够分离和分选原生质体。

正如细胞核一样，可以根据转基因表达GFP用流式分选植物原生质体。

可以将含有编码FP序列的基因构建于特定的启动子后，通过转基因植物，在特定启动子控制下实现FP特异性表达于特定的细胞中。

此外，启动子/增强子捕获法可应用于转基因植物中，使得其特定的细胞亚群高表达荧光蛋白（具体见<http://www.arabidopsis.org/abrc/haseloff.htm>）。

根据特定类型细胞内FPs的累积，用流式分选原生质体和细胞核的研究尚在进行中。

表14—1所示是近期发表的文章一些例子，作者应用联合标记FP和流式细胞术从复杂组织中分析和分选（有时）某一类型的细胞。

1.4 基因芯片分析基因表达 自发明之后，DNA芯片就作为能同时大量分析基因表达的最常用平台（Affymetrix公司商业化的原位光刻合成技术制造的DNA芯片没有纳入本文中，因为它们的使用方法基本上已程序化）。

在大多数实验环境下，DNA基因芯片提供了衡量，聚集在人们感兴趣的细胞或组织中的大量RNA分子表达丰度的方法，因此必须注意它们显示基因表达过程中非常特殊的一个方面。

<<流式细胞术操作规程>>

编辑推荐

《流式细胞术操作规程(第2版)》适于应用相关技术的科研和临床人员阅读参考。

<<流式细胞术操作规程>>

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>