第一图书网, tushu007.com

<<生物分子实验教材>>

图书基本信息

书名：<<生物分子实验教材>>

13位ISBN编号：9787561428214

10位ISBN编号：7561428219

出版时间：2004-6

出版时间：翟朝阳 四川大学出版社 (2004-06出版)

作者：翟朝阳 编

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

内容概要

为了适应高等院校教育改革，新的四川大学建立了医学生物分子实验室，并将原来免疫学、生物化学和分子生物学的实验课程纳入这个实验室的教学范畴。
这本教材就是在这个背景下产生的。

这本教材的内容，除包括了原有的免疫学、生物化学和分子生物学三门课程的主要实验外，还设计了一些综合性实验，其目的不仅要让学习者通过这样的实验掌握较全面的实验技能，而且要使他们能够将各学科的知识贯通起来综合运用。
由于这样的实验需要连续的操作，对学习者的意志、耐力、信心也将是一个考验。
希望通过这样的实验课学习，对学习者素质的提高有所帮助。

<<生物分子实验教材>>

书籍目录

实验1 凝集反应实验2 沉淀反应实验3 免疫扩散和免疫电泳实验4 补体结合实验实验5 溶血实验实验6 E玫瑰花环实验实验7 酶联免疫吸附实验实验8 猪脾(肝)细胞染色体工DNA的提取与测定实验9 植物染色体工DNA的提取实验10 细菌染色体DNA的提取实验11 酵母RNA的提取与测定实验12 定磷法测定核酸浓度实验13 质粒DNA的提取实验14 随机引物PCR测定细菌染色体DNA基因型实验15 核酸(DNA)电泳实验16 DNA的限制性核酸内切酶酶切分析实验17 DNA的琼脂糖凝胶电泳实验18 从凝胶中回收目的DNA片段实验19 质粒DNA与目的DNA片段的连接实验20 重组质粒DNA转化原核细胞实验21 大肠埃希氏菌感受态细胞的制备及转化实验22 重组克隆筛选实验23 蛋白质的沉淀和变性反应实验24 血清蛋白乙酸纤维素膜电泳实验25 琼脂糖凝胶电泳分离脂蛋白实验26 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离血清蛋白实验27 染色法测定蛋白质浓度实验28 Folin一酚法测定蛋白质浓度实验29 紫外吸收法测定蛋白质浓度实验30 SDS—PAGE测定蛋白质相对分子质量实验31 超氧化物歧化酶的分离和纯化实验32 超氧化物歧化酶活性染色鉴定法实验33 血清高密度脂蛋白一胆固醇和总胆固醇的测定实验34 去污剂及膜活性试剂对红细胞细胞膜的作用实验35 滴定法测定维生素C的含量实验36 细胞色素C的制备实验37 细胞色素C含铁量的测定实验38 碱性磷酸酶的分离、纯化和动力学实验39 肝糖原的提取与鉴定实验40 尿糖定性实验专题介绍单克隆抗体制备技术酶免疫组化染色技术荧光免疫组化技术DNA序列分析

章节摘录

书摘　　质粒DNA的提取　　【原理】　质粒DNA是细胞内独立存在的分子，为双链环状DNA，无蛋白质，主要存在于原核细胞和植物细胞。
质粒DNA在细胞内游离于染色体外，不与染色体DNA发生整合，并以多拷贝形式存在。
由于质粒DNA能在细胞内独立复制，不依赖细胞分裂和染色体的控制，所以在分子生物学中被广泛利用来作为携带外源DNA的载体，即利用分子克隆技术把外源DNA片段或基因重组到质粒DNA分子上，然后通过转化宿主细胞，获得带有外源基因或DNA片段的克隆(无性繁殖系)。
靠着宿主细胞的快速繁殖和质粒本身在细胞内的复制，可以获得大量拷贝的克隆的外源基因或DN．A片段，还可以使外源基因在宿主细胞内表达出蛋白质。
因此，根据质粒作为DNA载体的两个目的，可以将质粒载体分为两类：一是单纯用来克隆和扩增外源DNA片段或基因的质粒DNA分子，称之为克隆载体(克隆质粒)；另一类是在克隆载体的基础上，在质粒DNA分子多克隆位点上游的适当位置装有蛋白质表达调控元件(一般是启动子结构)的质粒，称之为表达载体(表达质粒)。
根据表达调控元件的性质(真核或原核)，表达质粒又进一步分为真核表达质粒或原核表达质粒。
　作为载体分子，在克隆中所用的质粒应当具有几个必要的条件：　(1)必须具有能在细胞内复制的复制起点，才能在宿主细胞内进行自主复制；　(2)必须具有可以与外源DNA连接的多种限制性核酸内切酶的单一的酶切位点，这样才能使外源DNA与载体分子被完成切割和连接，形成重组的质粒DNA分子；　(3)载体分子上应当具有可进行筛选的标记片段，如抗生素抗性基因、酶基因、营养缺陷基因等；　(4)质粒载体的分子不应过大，这样才能连接一定大小的外源DNA片段。
　对克隆载体的要求是能够通过复制获得大量的外源DNA拷贝，因此这种载体应能在适当的宿主细胞内有更多的拷贝数；对表达载体来说，需要在多克隆插入位点的上游装备与宿主细胞相适应的启动子、前导序列、加尾信号、增强子等。
有的表达载体还加有信号肽基因或融合蛋白基因片段，以利于表达检测或表达产物的提纯。
　质粒DNA的提取是分子生物学的基本操作技术，是分子生物学技术的一个基础。
制备质粒DNA分子有不同的目的。
为了获得纯的质粒DNA，以便进行分子克隆、蛋白质表达产物的提取和纯化或者用来转染供化细胞时，需要将带有质粒的细菌进行大量培养，从中提取出较多的质粒DNA备用。
而小量提取质粒DNA常常用在克隆的鉴定上，即在重组DNA分子转化或转染细胞以后，从转化的平板或转染的细胞培养板上挑取几个菌落或细胞克隆进行鉴定。
将菌落或细胞克隆按质粒DNA提取方法提取，直接进行电泳或经过酶切来判断是否带有质粒以及质粒上是否有外源DNA分子插入。
如有，证明重组成功；如无，则需再从更多的克隆提取质粒DNA进行鉴定。
小量提取质粒DNA分子具有快速、简便的优点。
一般一个人一次可同时做多个克隆的鉴定。
小量质粒分子DNA的提取是初学者做分子生物学实验的第一步。
大量的分子生物学研究是围绕着核酸分子展开的，掌握这项技术，对每一个从事分子生物学工作的人来说都是必需的。
　【方法】　1．有质粒的宿主菌的培养：用接种环在酒精灯火焰上烧红灭菌并冷却后，从细菌平板上挑取单个菌落，接种至装有2ml～3ml LB培养基的中试管中，370(2摇床振摇培养12h；或者直接从保存的液体菌种中蘸取少量细菌，接种到中试管中，同样3713振荡培养12h；或者用接种环直接从培养的细菌平板上刮取单个克隆，接种到装有1．5mlTE缓冲液的Eppendorf离心管中。
　2．从过夜培养的细菌液中取1．5ml装入Eppendorf离心管，用台式离心机以12000r／min离心30s。如果是刮取的细菌克隆，则直接离心。
　3．倒去上清液，将离心管倒放在实验桌面的卫生纸上以控干离心管中．的培养液。
　4．加入100IA溶液工，用漩涡振荡器将沉淀充分悬浮，或用移液器吹吸的方式反复吹吸，使细菌沉淀充分悬浮。

室温放置5mino　5．加人200~1的溶液Ⅱ(临时配制)，盖紧管盖后温和颠倒离心管3～5次，使管内液体充分混匀，冰浴5min。
6．加入150l的溶液Ⅲ，猛甩离心管2次，使管内液体混匀，冰浴3mlno　7．以12000r／min离心5min(室温或4°C)。
8．用移液器将上清液吸到另一Eppendorf离心管中，加入2倍体积的无水乙醇，上下颠倒离心管，使管内液体混匀。
以12000r／min离心10m．in(室温)。
9．倒去上清液，将离心管倒放在桌面的卫生纸上，尽量控干(约5min)。
10．加人15t-dIE缓冲液，在沉淀位置将沉淀溶解，以供电泳检测。
酶联免疫吸附测定(erlzylne—linked immunosorbent assay，ELISA)是在免疫酶技术(immunoenzymatic technique)的基础上发展起来的免疫测定技术，现已经成为临床医学的常规检测技术，用于检测抗体、抗原或半抗原。
ELISA的技术包括固相载体吸附抗体(抗原)（又称之为包被)，加入待测抗原(抗体)，再与相应的酶标记抗体(抗原)进行抗原抗体的特异免疫反应，生成抗体(抗原)—待测抗原(抗体)—酶标记抗体(抗原)的复合物，最后与该酶的底物反应生成有色产物。
由于待测抗原(抗体)的量与生成的有色产物成正比，所以可借助光吸收率计算抗原(抗体)含量。
酶结合物是酶与抗体或抗原、半抗原在交联剂作用下联结的产物，它是ELISA成败的关键试剂。
ELISA不仅具有抗原抗体特异的免疫学反应，还具有酶促反应，因而显示出生物放大作用。
制备的酶结合物必须符合高纯度、高活性、单价性三个条件。
其中的酶应具有性能稳定、经济易得、单独使用时对底物不产生颜色反应、只有终产物显色以及便于检测等特点。
常用的酶有碱性磷酸酯酶、辣根过氧化物酶(horseradperoxidase，ImP)、葡萄糖氧化酶、半乳糖苷酶等(表7—1)。
它们均可催化相应的无色底物产生有色产物，并有特定的光吸收峰，终止酶促反应后，底物不再改变。
……

媒体关注与评论

书评为了适应高等院校教育改革，新的四川大学建立了医学生物分子实验室，并将原来免疫学、生物化学和分子生物学的实验课程纳入这个实验室的教学范畴。
这本教材就是在这个背景下产生的。
　这本教材的内容，除包括了原有的免疫学、生物化学和分子生物学三门课程的主要实验外，还设计了一些综合性实验，其目的不仅要让学习者通过这样的实验掌握较全面的实验技能，而且要使他们能够将各学科的知识贯通起来综合运用。
由于这样的实验需要连续的操作，对学习者的意志、耐力、信心也将是一个考验。
希望通过这样的实验课学习，对学习者素质的提高有所帮助。
　我国的教育体制与国外有所不同，但在培养学习者成才这个目的上应当是相同的。
怎样达到这个目的，对教育工作者来说是需要探索的。
编写这本教材，实际上就是要吸取前人的精华而弥补他们的不足。
我们愿意尽力把这项工作做好。
尽管愿望很好，但本教材仍可能存在新的问题。
我们诚恳地虚心地欢迎使用者和前辈们、同行们提出宝贵的意见，以便我们今后修正，把大学的生物分子实验教学做得更好。
　这本教材是为大学本科生编写的，也适合作为研究生或教师的参考用书。
　编者2004春季

编辑推荐

为了适应高等院校教育改革，新的四川大学建立了医学生物分子实验室，并将原来免疫学、生物化学和分子生物学的实验课程纳入这个实验室的教学范畴。
这本教材就是在这个背景下产生的。
这本教材的内容，除包括了原有的免疫学、生物化学和分子生物学三门课程的主要实验外，还设计了一些综合性实验，其目的不仅要让学习者通过这样的实验掌握较全面的实验技能，而且要使他们能够将各学科的知识贯通起来综合运用。
由于这样的实验需要连续的操作，对学习者的意志、耐力、信心也将是一个考验。
希望通过这样的实验课学习，对学习者素质的提高有所帮助。

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