

目 录

第1章 导论/1

- 1.1 基因的本质是 DNA1
- 1.2 基因工程的诞生和发展 1
 - 1.2.1 基因工程的诞生 1
 - 1.2.2 基因工程的发展 3
- 1.3 基因工程的应用 4

上篇 基因的信息流

第2章 基因信息的复制/8

- 2.1 复制的基本概念 8
 - 2.1.1 半保留复制机制 8
 - 2.1.2 复制子和复制起始区 9
 - 2.1.3 半不连续复制 9
- 2.2 细菌染色体 DNA 的复制 12
 - 2.2.1 复制起始 12
 - 2.2.2 延伸 13
 - 2.2.3 终止和分离 14
- 2.3 细胞周期及其调控机制 14
 - 2.3.1 细胞周期 14
 - 2.3.2 关卡及其调节 15
 - 2.3.3 细胞周期蛋白和细胞周期蛋白依赖激酶 15
 - 2.3.4 细胞周期的活化和癌症 16
- 2.4 真核生物 DNA 的复制 17
 - 2.4.1 起始区和复制的起始 17
 - 2.4.2 复制叉 17
 - 2.4.3 端粒的复制 18
- 2.5 DNA 的突变、修复与重组 19
 - 2.5.1 DNA 的突变与损伤 19
 - 2.5.2 DNA 修复 22
 - 2.5.3 DNA 重组 25

第3章 基因信息的转录/29

- 3.1 原核生物的基因转录 30
 - 3.1.1 大肠杆菌的 RNA 聚合酶 30
 - 3.1.2 大肠杆菌的 σ 70 启动子 31
 - 3.1.3 转录的起始、延伸和终止 32
- 3.2 原核基因转录的调控 35
 - 3.2.1 乳糖操纵子 36
 - 3.2.2 色氨酸操纵子与衰减子 38
 - 3.2.3 更替 σ 因子调控转录 41
 - 3.2.4 菌群传感 43
 - 3.2.5 小 RNA 分子对基因表达的调控作用 43
- 3.3 真核生物基因的转录 45
 - 3.3.1 3 种 RNA 聚合酶的特点和功能 45
 - 3.3.2 RNA 聚合酶 I 基因 47
 - 3.3.3 RNA 聚合酶 III 基因 48
 - 3.3.4 RNA 聚合酶 II 基因的启动子和增强子 51
 - 3.3.5 RNA 聚合酶 II 的转录起始和基本转录因子 52
- 3.4 真核生物基因转录的调控 54
 - 3.4.1 转录因子的特点 58
 - 3.4.2 转录因子与 DNA 结合的结构域 59
 - 3.4.3 转录因子中的转录活化结构域 62
 - 3.4.4 转录因子的抑制作用 62
 - 3.4.5 调节转录的靶位 62
- 3.5 真核生物基因转录调控的实例 63
 - 3.5.1 构成性转录因子 SP163
 - 3.5.2 甾醇类激素及其受体的调节作用 63
 - 3.5.3 信号转递和转录活化 (STAT) 蛋白的磷酸化调节 64
 - 3.5.4 人类免疫缺损病毒 Tat 蛋白活化转录延伸 64
- 3.6 RNA 转录本的加工和 RNPs66
 - 3.6.1 rRNA 的加工和核糖体 66
 - 3.6.2 tRNA 的加工、RNase P 和酶活性 RNA67
 - 3.6.3 mRNA 的加工、hnRNPs 和 snRNPs68
 - 3.6.4 mRNA 加工方式的改变 71
 - 3.6.5 RNA 的编辑 71
 - 3.6.6 miRNA 及其加工 72

第4章 基因信息的翻译/74

- 4.1 遗传密码 74
- 4.2 tRNA 的结构和功能 77
- 4.3 原核生物中蛋白质的合成 79
 - 4.3.1 密码子与反密码子的相互作用 79
 - 4.3.2 蛋白质合成的过程 81
- 4.4 真核生物中的蛋白质合成 84
- 4.5 翻译的调控机制和翻译后的加工 87

中篇 基因的克隆及其功能分析

第5章 DNA 的克隆/92

- 5.1 DNA 克隆的载体 93
 - 5.1.1 质粒 93
 - 5.1.2 噬菌体 95
- 5.2 DNA 的制备 98
 - 5.2.1 制备细菌细胞总 DNA 98
 - 5.2.2 制备质粒 DNA 101
 - 5.2.3 制备噬菌体 DNA 105
 - 5.2.4 DNA 的定性和定量分析 106
- 5.3 DNA 操作的工具酶 107
 - 5.3.1 限制性核酸内切酶 107
 - 5.3.2 DNA 连接酶和连接反应 112
 - 5.3.3 核酸酶 116
 - 5.3.4 DNA 聚合酶 117
 - 5.3.5 磷酸酶 117
 - 5.3.6 其他工具酶 117

第6章 DNA 的导入技术及其载体/118

- 6.1 DNA 导入法 119
 - 6.1.1 大肠杆菌中的常规转化 119
 - 6.1.2 大肠杆菌的电转化 120
 - 6.1.3 啤酒酵母细胞的转化 121

- 6.1.4 机械导入法 121
- 6.2 重组子的识别 122
 - 6.2.1 抗性基因的插入失活 122
 - 6.2.2 基于半乳糖苷酶基因 lacZ 的 α -互补筛选 122
 - 6.2.3 聚果糖蔗糖转移酶基因的筛选 123
- 6.3 噬菌体 DAN 导入细菌细胞 124
 - 6.3.1 转染 124
 - 6.3.2 噬菌体的转导 124
 - 6.3.3 重组噬菌体的识别 125
- 6.4 大肠杆菌中的质粒载体 125
 - 6.4.1 质粒 pBR322 的优良性质 126
 - 6.4.2 其他典型的大肠杆菌质粒载体 126
- 6.5 基于 M13 噬菌体的克隆载体 128
 - 6.5.1 M13mp2 克隆载体的构建 129
 - 6.5.2 具有多克隆位点的 M13mp7 129
 - 6.5.3 复杂的 M13 克隆载体 130
 - 6.5.4 质粒与 M13 杂合的克隆载体 131
- 6.6 以细菌噬菌体 λ 为基础的克隆载体 132
 - 6.6.1 λ 基因组中的非必需区 132
 - 6.6.2 筛选限制性位点缺失的 λ 噬菌体 133
 - 6.6.3 插入载体和取代载体 133
 - 6.6.4 利用 λ 插入载体和取代载体的克隆试验 134
 - 6.6.5 柯斯质粒 135
 - 6.6.6 大容量载体: BACs 和 PACs 136
- 6.7 真核生物的克隆载体 137
 - 6.7.1 利用酵母中的载体 137
 - 6.7.2 高等植物的克隆载体 140
 - 6.7.3 动物的克隆载体 142

第7章 目标基因的获得/145

- 7.1 筛选克隆基因的两种基本手段 145
 - 7.1.1 直接筛选 145
 - 7.1.2 构建基因组文库 146
- 7.2 从文库中筛选目标基因 148

- 7.2.1 DNA 分子探针和杂交 148
- 7.2.2 制备杂交探针 149
- 7.2.3 免疫学筛选 151
- 7.3 目标基因的化学合成 152
- 7.4 聚合酶链式反应 (PCR) 154
 - 7.4.1 PCR 的发展历史 154
 - 7.4.2 PCR 的过程 154
 - 7.4.3 PCR 的温度循环 155
 - 7.4.4 PCR 反应的优化 155
 - 7.4.5 各种不同的 PCR 158
 - 7.4.6 PCR 的后续工作 159
 - 7.4.7 PCR 的应用 160

第 8 章 基因的结构和功能分析/164

- 8.1 基因的定位 164
 - 8.1.1 Southern 转移 164
 - 8.1.2 正交交变电场凝胶电泳 166
 - 8.1.3 原位杂交 167
- 8.2 基因所属连锁群或染色体的测定 168
 - 8.2.1 系谱分析法 168
 - 8.2.2 非整倍体测交法 169
 - 8.2.3 四分体分析法 170
 - 8.2.4 连锁群法 170
 - 8.2.5 利用染色体易位的基因定位 172
- 8.3 基因在染色体上的位置测定 173
 - 8.3.1 根据重组频率的基因定位 173
 - 8.3.2 根据所测基因在某一已知染色体区段中是否存在的基因定位 175
 - 8.3.3 根据并发事件的基因定位 176
 - 8.3.4 根据基因行为的定位 176
 - 8.3.5 测定绝对位置的基因定位 177
- 8.4 基因精细结构分析 179
 - 8.4.1 根据重组频率的基因定位 179
 - 8.4.2 缺失定位法 179
 - 8.4.3 共转导定位法 179

- 8.4.4 体细胞重组定位法 180
- 8.4.5 基因转变的梯度定位法 180
- 8.5 DNA 测序 181
 - 8.5.1 链末端终止法 181
 - 8.5.2 化学裂解法 183
 - 8.5.3 PCR 产物的直接测序 184
 - 8.5.4 自动化测序 184
 - 8.5.5 长序列拼接 185
- 8.6 基因表达的分析 186
 - 8.6.1 电子显微镜下的核酸分子 187
 - 8.6.2 利用核酸酶分析 DNA-RNA 杂合体 187
 - 8.6.3 引物延伸法分析转录物 188
 - 8.6.4 研究 RNA 转录物的其他技术 188
- 8.7 基因表达的调节研究 190
 - 8.7.1 DNA 蛋白质复合物的凝胶阻滞 191
 - 8.7.2 足迹法与 DNaseI 192
 - 8.7.3 修饰干扰分析 192
 - 8.7.4 缺失分析 193
 - 8.7.5 报道基因 195
- 8.8 识别目标基因的产物和功能 196
 - 8.8.1 杂交体释放翻译法和杂交体捕获翻译法 196
 - 8.8.2 体外突变分析蛋白质功能 197
- 8.9 研究目标基因产物的相互关系 200
 - 8.9.1 噬菌体展示 200
 - 8.9.2 酵母双杂交系统 200

第9章 基因组学/203

- 9.1 基因组序列的测定 204
 - 9.1.1 鸟枪法 204
 - 9.1.2 重叠群克隆法 206
 - 9.1.3 遗传图谱法协助序列装配 207
- 9.2 后基因组时代—理解基因组序列 208
 - 9.2.1 识别基因组序列中的基因 209
 - 9.2.2 未知基因的功能测定 210

- 9.3 各种组学的研究 211
 - 9.3.1 转录组学的研究 211
 - 9.3.2 蛋白质组学的研究 212
 - 9.3.3 代谢物组学的研究 213
- 9.4 系统生物学 213
 - 9.4.1 系统生物学的目标 213
 - 9.4.2 整合是系统生物学的灵魂 214
 - 9.4.3 信息是系统生物学的基础 215
 - 9.4.4 干涉是系统生物学的钥匙 216

下篇 基因工程的应用

第 10 章 利用基因工程生产重组蛋白/220

- 10.1 大肠杆菌中表达外源基因的专一性载体 220
 - 10.1.1 表达载体中的启动子 220
 - 10.1.2 基因盒和基因融合 223
 - 10.1.3 大肠杆菌生产重组蛋白的困难 225
- 10.2 利用真核细胞生产重组蛋白 226
 - 10.2.1 在酵母和丝状真菌中生产重组蛋白 226
 - 10.2.2 在动物细胞和昆虫细胞中生产重组蛋白 228
 - 10.2.3 利用动植物体生产重组蛋白 229

第 11 章 基因工程在医学上的应用/231

- 11.1 生产重组药物 231
 - 11.1.1 重组胰岛素 231
 - 11.1.2 在大肠杆菌中合成人体的生长激素 233
 - 11.1.3 重组凝血因子 VIII 的合成 234
 - 11.1.4 合成其他重组人体蛋白 235
- 11.2 基因工程疫苗 236
 - 11.2.1 疫苗与基因工程疫苗 236
 - 11.2.2 基因工程亚单位疫苗 238
 - 11.2.3 基因工程减毒疫苗 239
 - 11.2.4 活重组疫苗 240
 - 11.2.5 DNA 疫苗 242

- 11.2.6 转基因植物口服疫苗 243
- 11.3 基因诊断 243
 - 11.3.1 基因诊断的概念 243
 - 11.3.2 基因诊断的原理 244
 - 11.3.3 基因诊断的对象 245
 - 11.3.4 基因诊断的特点 246
 - 11.3.5 基因诊断的基本技术 247
 - 11.3.6 识别人类遗传疾病相关的基因 253
- 11.4 基因治疗 255
 - 11.4.1 基因治疗遗传疾病 255
 - 11.4.2 基因治疗和癌症 256
 - 11.4.3 基因治疗的伦理学 257

第 12 章 基因工程在农业上的应用/258

- 12.1 增添基因与植物遗传工程 260
 - 12.1.1 植物体自身生产杀虫剂 262
 - 12.1.2 其他添加基因的课题 262
- 12.2 删除基因 264
 - 12.2.1 反义技术的原理 264
 - 12.2.2 反义 RNA 和番茄果实成熟的基因工程 265
 - 12.2.3 反义 RNA 在植物基因工程中的其他应用 266
- 12.3 各种植物基因工程 266
 - 12.3.1 转基因植物作为生物反应器生产药物 266
 - 12.3.2 不断完善转基因植物稳定高效表达技术 267
 - 12.3.3 转基因培育高产作物 269
 - 12.3.4 转基因培育优质作物 270
 - 12.3.5 转基因培育抗真菌病害的作物 271
 - 12.3.6 转基因培育抗除草剂作物 273
 - 12.3.7 转基因培育耐环境胁迫的作物 273
- 12.4 转基因植物的安全性 275
 - 12.4.1 筛选标记的安全性 275
 - 12.4.2 对环境产生不良后果的可能性 276

第 13 章 代谢工程/277

- 13.1 代谢工程中的一些基本概念 278
 - 13.1.1 代谢途径与网络 278
 - 13.1.2 代谢通量及控制分析 279
 - 13.1.3 初级代谢与次级代谢 280
- 13.2 代谢工程的基本过程与原理 282
 - 13.2.1 代谢工程的基本过程 282
 - 13.2.2 代谢工程的基本原理 283
- 13.3 代谢工程的基本技术 283
 - 13.3.1 检测技术 284
 - 13.3.2 分析技术 284
 - 13.3.3 操作技术 284
- 13.4 代谢工程的应用 284
 - 13.4.1 提高目标产物的产量或产率 285
 - 13.4.2 表达外源蛋白 288
 - 13.4.3 扩大底物利用范围 289
 - 13.4.4 构建新产品生物合成途径 290
 - 13.4.5 构建新的外源毒性化学物质降解途径 290
 - 13.4.6 改良细胞其他生理特性 291
- 13.5 代谢工程与其他技术的关系 291
 - 13.5.1 代谢工程与“组学”技术 292
 - 13.5.2 代谢工程与计算系统生物学 293
 - 13.5.3 代谢工程与蛋白质工程 294
 - 13.5.4 代谢工程与组合生物学 294
 - 13.5.5 全局转录机器工程技术 295
 - 13.5.6 文库筛选技术 295
- 13.6 组合生物合成 296
 - 13.6.1 聚酮合酶及聚酮类生物合成机理 296
 - 13.6.2 聚酮类的组合生物合成 298

第 14 章 基因克隆和法医学/301

- 14.1 DNA 分析和罪犯嫌疑人的识别 301
 - 14.1.1 利用分子杂交探针分析遗传指纹 301
 - 14.1.2 PCR 短串联重复序列和 DNA 图谱 302
- 14.2 利用 DNA 图谱研究亲属关系 303

14.2.1 具有亲缘关系的个人具有相似的 DNA 图谱 303

14.2.2 DNA 图谱和罗曼诺夫的遗骸 304

14.3 性别的识别研究和 DNA 分析 305