

生化与基因操作技术

Protocols for biochemistry and gene manipulation

编写提纲

概述 0.5 万字

一、DNA 的提取、分离和纯化 0.8 万字

1. 载体与质粒（载体、质粒的基础背景，分离原理）
2. 质粒 DNA 的提取、分离和纯化（小量、中量制备）方法具体操作
3. 常见问题与解决对策

参考文献

二、DNA 限制性酶切 0.8 万字

1. 内切酶工作原理
2. 载体 DNA 酶切具体操作
3. 基因组 DNA 酶切具体操作
4. 常见问题与解决对策

参考文献

三、DNA 凝胶电泳与 DNA 片段回收 1.2 万字

1. DNA 凝胶电泳的基础与原理
2. DNA 凝胶电泳的具体操作
3. 基因组（酶切）电泳操作
4. DNA 凝胶片段回收原理与方法
5. DNA 凝胶片段的回收具体操作（试剂盒）：酶切产物回收
6. 常见问题与解决对策

参考文献

四、DNA 连接反应 1.0 万字

1. 连接酶，DNA 片段连接原理

2. DNA 片段与质粒的连接（粘末端、平末端）具体操作

3. 常见问题与解决对策

参考文献

五、大肠杆菌感受态细胞制备和转化 0.8 万字

1. 感受态细胞制备的基础背景与原理

2. 制备大肠杆菌感受态细胞的具体操作（钙转化与电转化，-80 度保存感受态细胞等）

3. 常见问题与解决对策

参考文献

六、总 RNA 的制备和 mRNA 的分离与琼脂糖凝胶 RNA 电泳 1.5 万字

1. RNA 提取的基础背景，mRNA 的分离原理

2. RNA 提取、mRNA 分离和纯化具体操作

3. 常见问题与解决对策

参考文献

七、cDNA 合成技术 1.0 万字

1. cDNA 合成原理

2. 利用 mRNA 合成 cDNA 的具体操作

3. 常见问题与解决对策

参考文献

八、基因组 DNA 的提取 1.2 万字

1. 基因组 DNA 的基础背景与分离原理

2. 基因组 DNA 的提取、分离和纯化具体操作（包含哺乳动物组织、细胞、昆虫、植物、细菌、病毒等）

3. 常见问题与解决对策

参考文献

九、聚合酶链式反应(PCR) 0.8 万字

1. PCR 反应的基础背景与原理
2. 引物设计与 PCR 具体操作
3. 常见问题与解决对策

参考文献

十、PCR 产物的纯化与克隆 0.5 万字

1. PCR 产物纯化的原理
2. PCR 产物纯化具体操作
3. 常见问题与解决对策

参考文献

十一、定量 PCR 0.8 万字

1. 定量 PCR 原理
2. 引物设计与具体操作
3. 常见问题与解决对策

参考文献

十二、核酸分子杂交技术 1.5 万字

1. 分子杂交基础知识与原理
2. Southern 杂交具体操作
3. Northern 杂交具体操作
4. 常见问题与解决对策

参考文献

十三、原核表达系统的操作 1.0 万字

1. 大肠杆菌表达系统的基础背景
2. 表达载体与表达菌株的选择
3. 表达载体构建与表达操作
4. 常见问题与解决对策

参考文献

十四、酵母表达系统的操作 1.0 万字

1. 毕赤酵母表达系统的基础背景
2. 表达载体的选择
3. 表达载体构建与表达操作
4. 常见问题与解决对策

参考文献

十五、杆状病毒表达系统的操作 1.5 万字

1. Bac to Bac 基础背景
2. 载体系列介绍与载体选择
3. 表达载体的构建与重组 Bacmid 筛选
4. 昆虫细胞培养与重组 Bacmid 转染细胞
5. 重组病毒粒子的收获与表达蛋白鉴定
6. 常见问题与解决对策

参考文献

十六、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 1.0 万字

1. SDS-PAGE 基础背景
2. SDS-PAGE 具体操作
3. 目的蛋白分子量与胶浓度选择
4. 常见问题与解决对策

参考文献

十七、Western blot 印迹分析与 ELISA 技术 0.5 万字

1. Western blot 原理
2. Western blot 转印膜的种类与选择
3. Western blot 具体操作
4. 常见问题与解决对策

参考文献

十八、表达蛋白的分离与纯化 1.0 万字

1. 融合蛋白分离、纯化原理与主要方法介绍
2. 融合蛋白柱层析分离、纯化具体操作
3. 割胶回收蛋白具体操作
4. 常见问题与解决对策

参考文献

十九、植物转基因操作与鉴定 1.2 万字

1. 植物转基因原理与主要方法介绍
2. 载体构建相关元件设计与具体操作
3. 农杆菌介导转染具体操作
4. 基因枪转基因操作
5. 转基因植物培育与筛选
6. 转基因植物鉴定

参考文献

二十、昆虫转基因操作与鉴定 1.0 万字

1. 昆虫转基因主要方法介绍
2. 载体构建相关元件设计与具体操作
3. 显微注射条件与具体操作
4. 阳性个体筛选与鉴定
5. 相关生物学测定

参考文献

二十一、微生物转基因操作与鉴定 1.0 万字

1. 微生物转基因主要方法介绍
2. 载体构建相关元件设计与具体操作
3. 微生物转化具体操作
4. 阳性个体筛选与鉴定

5. 相关生物学测定

参考文献

二十二、基因编辑 1.0 万字

1. 基因编辑方法介绍
2. 靶基因剪切设计与具体操作
3. 显微注射操作
4. 阳性个体筛选与鉴定
5. 相关生物学测定

参考文献

二十三、组学分析 1.0 万字

1. 组学概述
2. 转录组及分析方法
3. 代谢组及分析方法
4. 基因组测序与组装
5. 相关数据库与数据提交

参考文献

二十四、高通量测序 1.0 万字

1. 高通量测序概述
2. 高通量测序与微生物鉴定
3. 高通量测序与组学
4. 测序数据分析方法
5. 分析因子选择与设计

参考文献

二十五、动物相关代谢酶类活性测定 2.0 万字

1. 动物酶类概述
2. 解毒酶类
3. 消化酶类

4. 抗氧化酶类

5. 其他酶类

参考文献

二十六、植物相关代谢酶类活性测定 2.0 万字

1. 植物酶类概述

2. 解毒酶类

3. 抗逆性酶类

4. 抗氧化酶类

5. 其他酶类

参考文献

二十七、微生物相关代谢酶类活性测定 2.0 万字

1. 微生物酶类概述

2. 基础代谢酶类

3. 抗逆性酶类

4. 抗氧化酶类

5. 其他酶类

参考文献

二十八、蛋白互作研究技术 1.2 万字

1. 蛋白互作概述

2. CO-IP 与 pull-down

3. 酵母双杂交技术

4. 荧光互补

5. 其他技术介绍

参考文献

二十九、线粒体基因组测序与组装 1.0 万字

1. 线粒体基因组

2. 线粒体基因组测序与序列筛选
3. 线粒体基因组组装
4. 线粒体基因组在进化分析中的应用

参考文献

三十、生物信息学相关软件操作 1.0 万字

1. 序列分析软件
2. 进化分析软件
3. 功能域预测与 3D 结构模建
4. 蛋白质互作分析软件
5. 设计

参考文献

附录 1: 常用的试剂配制 1.0 万字

附录 2: 常用载体和内切酶 1.5 万字

附录 3: 菌株、载体、生化试剂等材料的保存方法 1.0 万字

附录 4: 各种酶活性测定试剂配制方法 1.5 万字