

<<真核生物转录调控>>

图书基本信息

书名：<<真核生物转录调控>>

13位ISBN编号：9787030346155

10位ISBN编号：7030346157

出版时间：2012-6

出版时间：科学出版社

作者：（美）凯里 等著，王进科 译

页数：691

字数：1109000

译者：王进科

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>

## <<真核生物转录调控>>

### 内容概要

真核生物转录调控：概念、策略与技术（第二版）是美国冷泉港实验室出版社出版的《真核生物转录调控——概念、策略与技术》（第二版）一书的中译本。

书中全面介绍了真核基因转录调控的概念，以及进行研究所使用的策略和技术。

涉及内容包括哺乳动物细胞转录调控入门知识、基因转录调控的两个重要角色——DNA元件和蛋白质组分的鉴定及功能表征，以及两者间复杂的相互作用构成的基因转录调控的重要事件和这些事件发生的染色质环境。

真核生物转录调控：概念、策略与技术（第二版）概括了真核基因转录调控的基本概念、实施转录调控研究的基本策略，以及实现研究目标的重要技术。

因此，真核生物转录调控：概念、策略与技术（第二版）对于医学、生物化学、分子生物学、生物技术等领域中对基因转录调控感兴趣或从事相关研究的学生、教学科研人员和技术人员是一本重要读物。

## &lt;&lt;真核生物转录调控&gt;&gt;

## 书籍目录

译者序前言概述缩略词1 哺乳动物细胞转录调控入门引言和概述全基因组方法小结染色质和通用转录机器染色质结构和组织染色质修饰染色质重塑通用转录机器调控区的组织基础转录复合物的组装和起始调解因子TFIID和TAF活化和抑制基因活化转录起始期间的染色质修饰和重塑通用机器募集的一种模式聚合酶II延伸的初始阶段聚合酶II在基因内遭遇核小体转录的沉默或抑制结语参考文献2 初始策略性问题引言和概述实验策略新转录因子的表征方法分析新基因的调控专题2.1 核连缀转录分析考虑达到明确目标所需的时间投入和资源确定项目目标评估分析的可行性启动对新基因的综合转录调控分析技术方案2.1 核连缀分析参考文献3 转录起始位点的定位引言和概述实验策略初步考虑快速扩增cDNA末端(RACE)专题3.1 帽子依赖性RACE程序引物延伸专题3.2 引物延伸RNase保护法专题3.3 RNase保护S1核酸酶分析专题3.4 核酸酶保护专题3.5 核酸酶保护技术方案3.1 引物延伸分析方案3.2 RNase保护分析参考文献4 启动子分析的功能性分析方法引言和概述实验策略选择分析方法:各种分析方法的优缺点瞬时转染分析专题4.1 常用的转染方法专题4.2 萤光素酶报告基因分析专题4.3 CAT报告基因分析专题4.4 LacZ、SEAP和GFP报告基因分析法专题4.5 瞬时转染细胞的分离通过染色体整合的稳定转染分析专题4.6 有复制能力的载体技术哺乳动物细胞的常用转染方法方案4.1 3T3成纤维细胞的磷酸钙转染方案4.2 淋巴细胞系的DEAE-葡聚糖转染方案4.3 RAW264.7巨噬细胞的电穿孔转染方案4.1~4.3的附加说明方案4.4 萤光素酶分析方案4.5 氯霉素乙酰转移酶分析方案4.6  $\beta$ -半乳糖苷酶分析参考文献5 远程控制区的鉴定和分析引言和概述专题5.1 DNase I高敏感性分析实验策略DNase I高敏感性基质附着区的鉴定专题5.2 鉴定MAR的方法鉴定远程控制区的功能性方法表征远程控制区的功能性分析方法参考文献6 鉴定控制区内的顺式作用DNA元件引言和概述实验策略通过综合性突变体分析鉴定控制元件综合性分析的策略来自综合性突变体分析与系统发生分析比较的深刻见解参考文献7 鉴定DNA结合蛋白及其基因引言和概述鉴定DNA结合蛋白的实验策略数据库方法用于粗制细胞裂解物的蛋白质-DNA相互作用分析方法的发展专题7.1 假设EMSA结果克隆和鉴定编码DNA结合蛋白基因的实验策略专题7.2 通过蛋白质纯化克隆通过蛋白质纯化和肽序列分析进行克隆其他克隆方法参考文献8 确认蛋白质-DNA相互作用的功能相关性引言和概述实验策略染色质免疫沉淀通过基因破坏或RNA干扰的功能缺失研究体外蛋白质-DNA复合物的丰度DNA结合蛋白和靶基因的相对表达模式蛋白质结合所需核苷酸和调控元件活性所需核苷酸之间的相关性DNA结合蛋白的过量表达对报告基因或内源基因的反式激活与相邻控制元件结合的蛋白质间的协作结合和协同效应基因组足迹模式和体外足迹模式的比较蛋白质-DNA相互作用的相对亲和力和显性失活突变体体外转录策略改变特异性实验参考文献9 内源性控制区的体内分析引言和概述实验策略染色质免疫沉淀DamID DNase I和DMS基因组足迹专题9.1 连接介导PCR高锰酸钾基因组足迹核小体存在和定位的Southern印迹分析专题9.2 通过MNase-Southern印迹分析进行核小体定位的低分辨率分析监测核小体存在和定位的LM-PCR、PCR及ChIP策略用于分析核小体重塑的体内方法的概述DNase I高敏感性监测核小体重塑用于监测核小体重塑的MNase方法限制性内切核酸酶可及性分析专题9.3 限制性内切核酸酶可及性-LM-PCR分析染色质构象捕获DNA甲基化技术方案9.1 MNase-Southern印迹分析方案9.2 LM-PCR方法方案9.3 染色质免疫沉淀参考文献10 鉴定和表征转录调控因子的结构域引言和概述实验策略:定义结构域功能结构域的鉴定专题10.1 结构域的计算分析基本突变原理专题10.2 表达系统专题10.3 标签识别与检测的通用方法序列特异性调控因子的结构域分离序列特异性调控因子的DNA结合和激活/抑制结构域专题10.4 VP16激活结构域:个案研究专题10.5 GAL4:个案研究专题10.6 KRAB抑制结构域:个案研究细分DNA识别亚结构域和寡聚化亚结构域概念和策略:蛋白质-蛋白质相互作用共激活因子和共抑制因子的分离及克隆研究激活结构域与共激活因子相互作用的方法通过亲和层析研究激活/抑制结构域与其靶标之间的相互作用改变特异性遗传系统通用转录机器的结构-功能分析共激活因子的分析技术方案10.1 PCR介导的定点突变参考文献11 DNA的调控性转录因子结合引言和概述实验策略DNA-蛋白质相互作用的一般理论和实例专题11.1 Kd情况的例子DNA-蛋白质相互作用的分析及建模专题11.2 SAAB分析专题11.3 DNase I足迹和外切核酸酶足迹专题11.4 用于小沟相互作用的化学探针启动子特异性多组分核蛋白复合物的分析技术方案11.1 DNase I足迹方案11.2 羟自由基足迹方案11.3 磷酸乙基化干扰分析方案11.4 甲基化干扰分析方案11.5 电泳迁移率变动分析方案11.6 32P末端标记DNA片段的准备参考文献12 体外转录和起始前复合物组装引言和概述实验策略提取物的制备转录分析专题12.1 测

<<真核生物转录调控>>

定体外转录的方法分级分离的系统专题12.2 纯化的转录因子基本起始前复合物的形成开放复合物的形成、起始和启动子逃脱活化复合物在启动子上的组装技术核提取物制备:概述方案12.1 Dignam和Roeder核提取物方案12.2 使用HeLa细胞提取物和引物延伸的体外转录方案12.3 使用HeLa细胞核提取物的无G序列盒体外转录共激活因子的纯化(方案12.4和方案12.5)方案12.4 表位标记TFIID的纯化方案12.5 从表达FLAG标记调解因子亚基的HeLa细胞系中纯化调解因子方案12.6 固定化模板分析方案12.7 Pol II开放复合物的高锰酸钾探测方案12.8 DNA结合TFIID的镁-琼脂糖EMSA参考文献13 体外研究染色质动力学:染色质组装、重塑和转录引言和概述实验策略用于组装染色质的策略专题13.1 DNA模板和重建方法对阵列内核小体定位的影响组蛋白来源染色质重建的生化表征专题13.2 核小体阵列的MNase分析专题13.3 核小体阵列的EcoRI酶切分析体外测验组蛋白修饰作用策略染色质重塑/修饰酶的分析以染色质模板进行体外转录技术方案13.1 鸡红细胞组蛋白八聚体制备方案13.2 核小体的盐梯度透析重建方案13.3 利用重组的果蝇ACF和NAP1重建核小体阵列参考文献附录:注意事项索引

## &lt;&lt;真核生物转录调控&gt;&gt;

## 章节摘录

通过分析用特定报告质粒得到的数个独立克隆，可以获得所得到的活性范围和平均活性的相关知识。

当尝试比较控制区在不同细胞系中的活性，或尝试比较野生型控制区和突变型控制区时，这一信息非常有价值。

克隆与克隆之间的变异性使这些对比难以进行，但是，如果知道了变异性的程度就能很有帮助。

如果目的是监测稳定转染细胞中特定控制区的诱导活性，那么分离和分析单个细胞克隆就同样重要，这是因为整合位点会影响诱导的程度。

#### 分析细胞克隆。

尽管对几个不同克隆的分析是有价值的，但是在多数情况下，没有必要严格地确定每个假定克隆都确实是克隆的。

如果96孔板上的一小部分孔中含有抗药性群落，那么每个群落就可能是克隆的。

对于某些实验，明确地确定每个群落都是克隆的（通过极限稀释对细胞进一步亚克隆，以及通过Southern印迹分析确定整合位点）可能很重要。

然而，因为几个细胞克隆将会被比较，并且预计由于整合位点的差异有相当大的变化，因此某些样品的寡克隆一般不会产生大的影响。

拷贝数的严格确定（通过定量的Southern印迹或实时PCR）也可能没有必要，除非需要精确确定以单个克隆观察到的变化中有多少变化归因于拷贝数的变化，而又有多少变化归因于整合位点的变化。

在某些情况下，该信息是有用的，如确定一个控制元件是否符合LCR的定义。

然而，对于大多数基因调控研究来说，该信息价值有限。

#### 分析细胞池。

分离几个单个克隆的替代方法是比较几个独立的细胞池，这一策略的潜在优势是由整合位点和拷贝数的差异造成的各池中的变异可被平均，从而减小池间的差异；其缺点是如果一个或少数克隆表现出由报告基因或抗药性基因的整合位点或表达水平造成的生长优势，池中每个克隆的相对丰度会随时间剧烈变化。

其实，稳定转染细胞的细胞池可以非常迅速地成为寡克隆或单克隆。

因此，不能假定对细胞池的分析可以产生对许多克隆系进行单独分析时获得的平均结果。

而且，在某一时刻以细胞池获得的结果可能不同于将细胞传代数周后获得的结果，这是因为细胞的选择性过度生长十分常见。

因此，需要注意的是，相对于当分离了单个克隆时检验的数目，细胞池的使用不能减少以每个报告质粒所需检验的样品数目。

虽然细胞池的使用理论上可产生来自大量单个克隆的平均报告基因信号，但是一个或少数几个克隆选择性过度生长的可能性使得对几个细胞池进行检验成为必要。

**对照及结果的解释** 稳定转染分析中，需要用对照确证启动子受到正确调控。

如果启动子预期是细胞类型特异性的，那么用不同细胞系进行稳定转染实验就可以确定这一点。

正如瞬时转染实验，用病毒启动子/增强子驱动的报告基因进行平行实验，将有利于对从不同细胞系获得的结果进行归一化处理。

.....

<<真核生物转录调控>>

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>