

# 一. 目的基因的筛选与获取.

## (一) 目的基因

- 1. 定义.
- 2. 主要种类 — 编码蛋白质的基因.

## (二) 筛选

- 1. 方法.
- 2. 技术手段.

## (三) 获取.

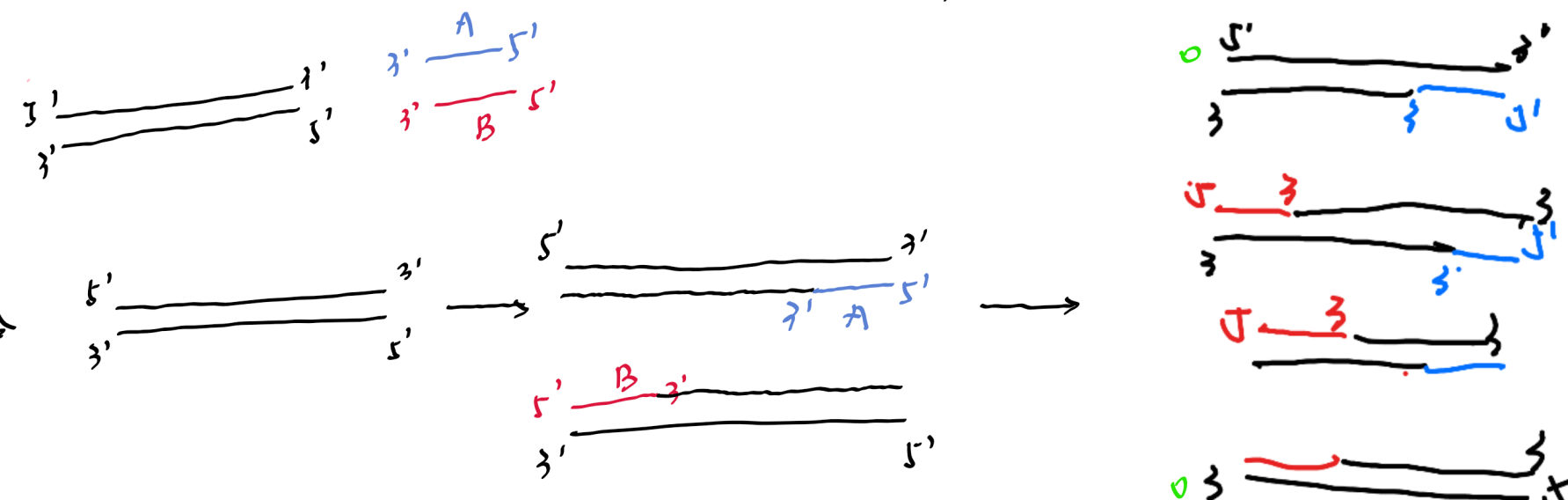
- 1. 人工合成.
- 2. PCR扩增.

### (1) 定义.

- (2) 反应体系 { 2种引物 } 作用: 引物
- DNA模板
- 4种脱氧核糖核苷酸
- 耐高温的DNA聚合酶
- 缓冲液 ( $Mg^{2+}$ )

### (2) 工具: PCR仪. (控制温度)

- (4) 过程: { 变性: 超  $90^{\circ}C$  将双链解为单链
- 复性:  $50^{\circ}C$  左右 引物与单链结合
- 延伸:  $72^{\circ}C$  左右 合成子链

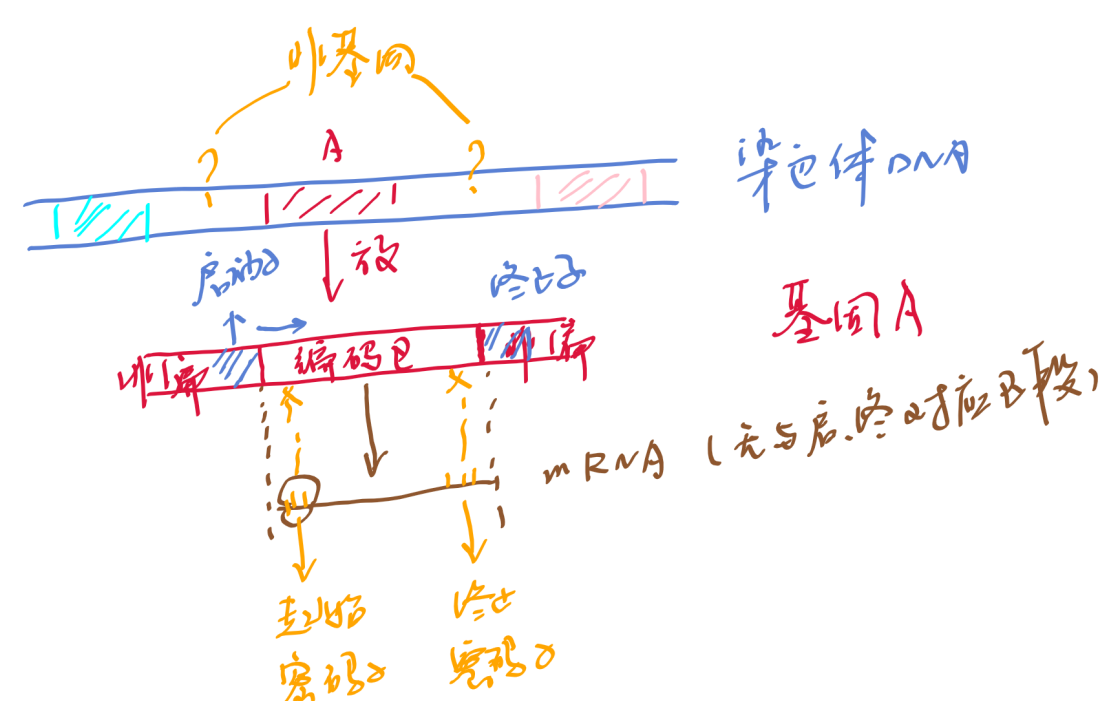


### (5) 鉴定.

## 3. 构建基因文库.

## 二. 基因表达载体的构建.

- 1. 目的: 筛选、遗传 (1) 表达、发挥作用 (2)
- 2. 组成 { 目的基因. 标记基因. 启动子. 终止子. 复制原点 }



## 3. 方法

## 三. 目的基因导入受体细胞.

- 1. 植物 { 花药离体培养. 农杆菌转化法 } 受体对象: 农杆菌宿主 Ti质粒. T-DNA (可转移DNA) (1)(2)
- 过程.

## 2. 原核: $Ca^{2+}$ 处理

## 3. 动物: 显微注射 → 受精卵.

## 四. 目的基因的检测与鉴定.

### 1. 目的: 筛选、表达.

- 2. 分子水平的检测 { 是否插入染色体DNA. 是否转录出mRNA. 是否在翻译出蛋白质. 抗原-抗体杂交. } PCR等.

### 3. 个体生物学水平鉴定: 抗病接种实验