

研究报告

细胞粘附分子 P-selectin 功能片段在 CHO 细胞表面的锚定表达

娄晓芳, 王双, 杜威世, 于蕊, 俞炜源, 孙志伟

军事医学科学院生物工程研究所, 北京 100071

摘要: 为了筛选出针对细胞粘附分子 P-selectin 的特异性抗体, 克隆了 P-selectin 功能性基因片段, 使其通过糖基化磷脂酰肌醇(GPI)锚定表达于真核细胞的细胞膜上, 以用作筛选的抗原。提取人血小板的总 RNA, RT-PCR 扩增出 P-selectin 目的基因片段, 同时用重叠延伸 PCR 的方法合成细胞膜锚定信号肽 GPI 基因; 将二者按上下游顺序插入含有弱化 neo 基因的真核表达载体 pMCEw2 中; 并将构建的重组质粒 pMCEw2-GPI-P-selectin 转染 CHO^{dhfr}-细胞, G418 筛选获得阳性细胞株, 利用 ELISA、免疫印迹和免疫荧光法检测 P-selectin 的表达。实验证实了 P-selectin 在细胞膜上获得稳定表达。为进一步进行抗 P-selectin 的特异性抗体的筛选提供了必要前提。

关键词: P-selectin, 糖基化磷脂酰肌醇, 粘附分子

Eukaryotic Expression of P-selectin Functional Segment on the Membrane of CHO

Xiaofang Lou, Shuang Wang, Weishi Du, Rui Yu, Weiyuan Yu, and Zhiwei Sun

Institute of biotechnology, Academy of Military Medical Science, Beijing 100071, China

Abstract: Cell adhesive molecular P-selectin was cloned, expressed and anchored on CHO cell membrane through GPI for selection specific antibodies. Total human platelet RNA was extracted and the functional segment of P-selectin gene was cloned by RT-PCR. The P-selectin functional segment gene was cloned into a eukaryotic expression vector pMCEw2-GPI containing an attenuated neo gene together with a downstream GPI, which was synthesized by overlapping PCR. The recombinant plasmid pMCEw2-GPI-P-selectin was then transfected to CHO^{dhfr}- cells and screened with G418. ELISA, western-blot and immunofluorescence were carried out to detect the stability of P-selection expression on cell membrane. These results provided a necessary basis for the following study of selection the antibodies targeting P-selectin.

Keywords: P-selectin, glycosyl-phosphatidylinositol (GPI), adhesion molecular

P-selectin, 又称血小板活化依赖性颗粒表面膜蛋白(Platelet activation dependent granuleexternal membrane protein, PADGEM)或 CD62p 或 GMP140, 是一种分子量为 140 kD 的膜糖蛋白, 定位于血小板的 α -颗粒和内皮细胞棒管状(Weibel-Palade)小体内。

P-selectin 由 789 个氨基酸残基组成: N 末端 730 个氨基酸构成胞外区, 35 个氨基酸构成胞浆短尾, 之间为 24 个氨基酸组成的跨膜区。胞外区有一个凝集素样结构域(Lectin-like domain), 一个表皮生长因子样结构域(Epidermal growth factor-like domain)和九

Received: November 14, 2007; **Accepted:** February 4, 2008

Corresponding author: Zhiwei Sun. Tel: +86-10-66948764; E-mail: szwyhhh@yahoo.com.cn

个补体调节蛋白重复单位(Complement regulatory protein consensus repeat units)^[1,2], 其结构见图 1。P-selectin 是细胞粘附分子选择素家族的主要成员, 主要作用为在感染及其他炎症反应过程中, 通过与相应配体结合介导白细胞与管壁接触, 使白细胞在血管壁上缓慢滚动, 从而启动一系列反应, 最终导致白细胞在炎症反应区集中。作为血小板/内皮细胞活化标志和粘附受体, P-selectin 已被证明是炎症早期介导白细胞与内皮细胞等最初粘附, 启动炎症反应并维持炎症状态的关键成分^[3,4]。现已证明, P-selectin 与免疫损伤、血栓形成及肿瘤转移等多种临床疾病关系十分密切^[5]。因此, P-selectin 是其相关炎症性疾病重要的治疗靶标, 已有实验证实, P-selectin 抗体可以有效地改善如胃癌转移、缺血再灌注损伤等疾病相关症状。因此, 研制抗 P-selectin 的功能抗体对其相关疾病治疗具有重要作用。据研究报道, P-selectin 与其配体的结合主要由凝集素样结构域介导, 凝集素样结构域能够独立支持白细胞黏附, 但最佳结合结构还需表皮生长因子样结构域对其构型的稳定, 实验证明表皮生长因子样结构域独有一个细胞黏附所必需的分子接触表面。因此, 一般认为, lectin-EGF 共同区域可能是 P-selectin 黏附更有效的功能结构域。所以, 在本课题中, 我们共克隆了这两个结构域的全部基因以及九个补体蛋白重复序列中的前两个基因片段, 因为其可能对构型起诱导和促进作用。将该基因片段与糖基磷脂酰肌醇(GPI)锚定信号肽基因序列按前后顺序克隆入真核表达载体 pMCEw2 中, 使其通过 GPI 锚定表达于 CHO 细胞表面。这种膜表面表达 P-selectin 的 CHO 细胞可以作为筛选抗原, 为进一步进行抗人 P-selectin 的特异性抗体的筛选提供了必要条件。

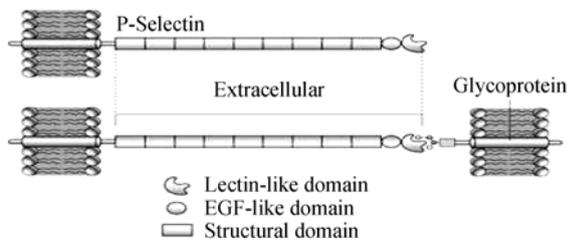


图 1 P-selectin 结构示意图

Fig. 1 The structure scheme of P-selectin

1 材料和方法

1.1 材料

CHO^{dhfr}细胞株为本室保存; 人血小板由 301 医院输血科骆群主任惠赠; 真核表达载体 pMCEw2 为本室构建。大肠杆菌 Top10、DH5 α 为本实验室保存。

TRIzol 试剂、总 RNA 分离试剂、SuperScriptTMII 逆转录酶以及转染试剂 lipofectamineTM2000 购自 Invitrogen 公司; pGEM-T 购自 Promega 公司; IMDM、HT 为 Invitrogen 公司产品; LATAqTM 聚合酶, Taq DNA 聚合酶, pfu DNA 聚合酶, 限制性内切酶 EcoR V, Hind III, Xho I 为 TaKaRa 公司产品; PCR 片段回收试剂盒和质粒提取试剂盒为 OMEGA 公司产品; 鼠抗人 P 选择素抗体购自 GeneTax 公司; HRP 标记的羊抗鼠 IgG 以及 FITC 标记羊抗鼠 IgG 购自中杉金桥技术有限公司。其它常用生化试剂购自军事医学科学院条件处。

1.2 引物的合成

根据 GenBank 中 P-selectin 的基因序列设计引物如下(5'-3'), 由 Invitrogen 公司合成。上游引物引入 EcoRV 酶切位点, 下游引物引入 Hind III 酶切位点, 用于克隆 P-selectin N 端 1 至 972 位的基因。

上游引物(L-PL): CCGGATATCATGGCCAAC T GCCAAATAG

下游引物(L-PR): GCGAAGCTTACTACTGCAC AGCTTTACAC

根据 GeneBank 中 GPI 的基因序列设计如下引物, 以通过重叠延伸 PCR 获得 GPI 基因片段。

GPI-1(5'-3'): CCGGATATCCCGATGTCGCGG CCGCGGCAGCGGCACCACCAGCGGCACCACC GCCTCCTG

GPI-2(5'-3'): GTGCCAGCAGGCCGGTTCAG GGTGAAGCAGGTCATGCCGCTCAGGAGGCGGG TGGTGCC

GPI-3(5'-3'): GACCGGCCTGCTGGGCACCCT GGTGACCATGGCCTGCTGACCTGATAACTCGAG GCAG

GPI L(5'-3'): CCGGATATCCCGATGTCAAG

GPI R(5'-3'): CTGCCTCGAGTTATCAGG

1.3 pMCEw2-GPI-P-selectin 重组质粒的构建和鉴定

1.3.1 GPI 基因的获得

利用重叠延伸 PCR 的方法。先利用 GPI-1, GPI-2,

GPI-3 三条引物 PCR 扩增 10 个循环。再以上述 PCR 产物为模板, 利用 2 条短引物 GPIL 和 GPIR 进行 PCR, 获得完整的 GPI 基因。反应后利用试剂盒回收 PCR 产物, 将回收后的产物与 pGEM-T 载体连接 (图 2), 转化大肠杆菌 Top10, 用蓝白斑筛选的方法, 筛选出阳性克隆, PCR 鉴定正确后提取质粒, 用限制性内切酶酶切鉴定质粒, 鉴定正确的克隆由北京 Invitrogen 公司进行测序。

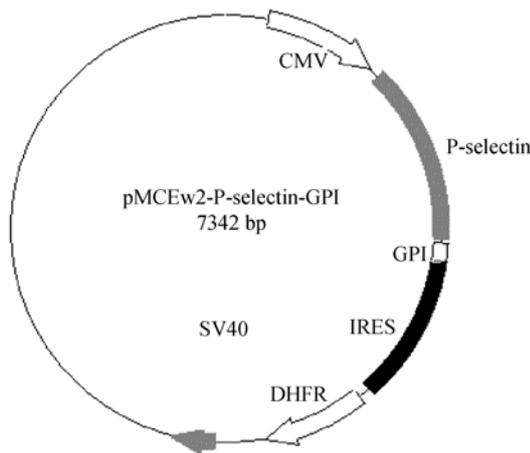


图 2 pMCEw2-GPI-P-selectin 构建示意图
Fig. 2 Construction of expression vector pMCEw2-GPI-P-selectin

1.3.2 pMCEw2-GPI 重组质粒的构建、鉴定

先用 *EcoR* V 完全酶切, 再用 *Xho* I 部分酶切 pMCEw2, 琼脂糖凝胶电泳回收目的片段, 同时用 *EcoR* V 和 *Xho* I 完全酶切鉴定正确的 pGEM-T-GPI, 琼脂糖凝胶电泳回收目的基因 GPI, 连接构建重组载体 pMCEw2-GPI。转化大肠杆菌 Top10 筛选阳性克隆, PCR 鉴定正确后提取质粒。用限制性内切酶 *EcoR* V 和 *Xho* I 双酶切鉴定质粒, 鉴定正确的质粒由北京 Invitrogen 公司进行测序。

1.3.3 P-selectin 基因的获得

以人血小板总 RNA 为模板, RT-PCR 得到 P-selectin 基因。采用 Trizol 试剂从血小板中抽提出总 RNA, 然后利用反转录酶 SuperScriptTMII 和随机引物进行反转录。随后以反转录产物为模板, 利用引物 L-PL 和 L-PR PCR 扩增 25 个循环后回收, 回收产物与 pGEM-T 载体连接, 转化大肠杆菌 Top10, 用蓝白斑筛选的方法, 筛选出阳性克隆, PCR 鉴定正确后提取质粒, 用限制性内切酶酶切鉴

定质粒, 鉴定正确的克隆由北京 Invitrogen 公司进行测序。

1.3.4 pMCEw2-GPI-P-selectin 重组质粒的构建与鉴定

同时用 *EcoR* V 和 *Hind* III 双酶切鉴定正确的 pMCEw2-GPI 和 pGEM-T-P-selectin, 分别回收载体和片段, 连接构建形成重组载体 pMCEw2-GPI-P-selectin。转化大肠杆菌 Top10 筛选阳性克隆, PCR 鉴定正确后提取质粒。用限制性内切酶 *EcoR* V 和 *Hind* III 双酶切鉴定质粒, 鉴定正确的质粒由北京 Invitrogen 公司进行测序。

1.4 重组质粒 pMCEw2-GPI-P-selectin 的真核表达

鉴定正确的重组质粒 pMCEw2-GPI-P-selectin 转染 CHO^{dhfr} 细胞, 具体操作步骤参照 lipofectamineTM 2000 产品说明书, 稍作改动。

(1) 转染前一天转接 4×10^5 细胞于 6 孔板中, 24 h 细胞约 80% 汇合度。(2) 取 4.0 μ g 的 DNA 稀释于 250 μ L Opti-MEM 中, 混匀; 10 μ L 脂质体稀释于 250 μ L Opti-MEM 中, 轻轻混匀, 静置 5 min。(3) 将上述制备的溶液混合, 室温静置 20 min; 将 6 孔板中各个孔换成无血清无抗生素的 2 mL Opti-MEM; 将上述的混合物 500 μ L 转入 6 孔板孔中, 轻轻前后晃动混匀。(4) 5 h 后将各个孔中的培养基换成完全培养基 DMEM(含 10% 小牛血清), 37°C 于 CO₂ 孵箱培养。(5) 24 h 后, 将其从六孔板中传至细胞培养瓶中。(6) 48 h 后, 换为 G418 筛选培养基, 以后每 3 天换一次液, 每天观察, 看是否形成克隆。(7) 待形成克隆, 挑取克隆进行 ELISA 鉴定。

1.5 P-selectin 在 CHO 细胞膜表面表达的 Western 印迹鉴定

膜蛋白制备: 分别收集 1×10^6 稳定转染的细胞和普通 CHO 细胞, 用预冷 PBS 洗涤后, 每瓶加入 2% Triton X-114(含 2% Triton X-114, 50 mmol/L Tris-HCl, 1 mmol/L PMSF, pH 7.5) 0.35 mL, 冰浴 20 min。收集裂解液, 于 4°C, 10 000 g/min, 离心 5 min, 收集上清液, 蒸馏水 4°C 透析 6 h, 再于 37°C 水浴 10 min, 2000 g 离心 5 min, 取上层水相, 超滤浓缩后 -20°C 冻存。

Western blotting 鉴定: 分别将两种膜蛋白跑 SDS-PAGE 凝胶电泳, 16 V 转膜, 用含 2% BSA 的 PBST 室温封闭 1 h, 然后加入 1:200 稀释的抗

P-selectin 的鼠抗体 37°C 孵育 1 h, PBS 彻底清洗, 然后与 1:200 稀释的 FITC 标记羊抗鼠 IgG, 37°C 孵育 0.5 h; PBS 彻底清洗后, 加入显色液显色。

1.6 P-selectin 在 CHO 细胞膜表面表达的免疫荧光检测

稳定转染的细胞铺板, 过夜后用甲醇(含 5% 醋酸) -20°C 固定 20 min 后, 1×PBS 洗两次, 加入 1:200 稀释的抗 P-selectin 的抗体 37°C 孵育 1 h, 然后与 1:200 稀释(1%伊文氏兰稀释)的 FITC 标记羊抗鼠 IgG, 37°C 孵育 0.5 h; PBS 彻底清洗后, 于荧光显微镜下观察。

2 结果

2.1 pMCEw2-GPI-P-selectin 重组质粒的构建及鉴定

提取人血小板总 RNA, RT-PCR 的方法获得人 P-selectin N 端 1 至 972 位的基因(图 3), 与 pGEM-T 载体连接成 pGEM-T-P-selectin, 经测序证明序列正确后。通过重叠延伸 PCR 的方法合成 GPI 信号肽基因, 经琼脂糖凝胶电泳回收约 141 bp 的目的条带(图 4)。与 pGEM-T 载体连接, 经测序证明序列正确后, 与载体 pMCEw2 构建 pMCEw2-GPI 后, 再与 pGEM-T-P-selectin 构建 pMCEw2-P-selectin-GPI, 用 *EcoR* V 和 *Xho* I 双酶切鉴定后, 证实二者已按设计的前后顺序插入载体中(图 5)。

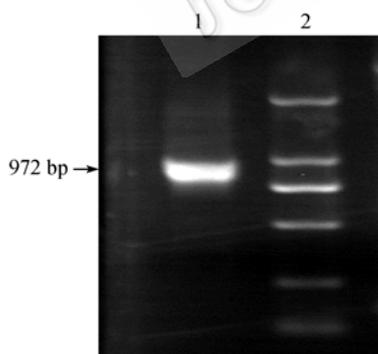


图 3 人 P 选择素基因的的 PCR 产物
Fig. 3 PCR products of human P-selectin functional segment
1: the gene of P-selectin; 2: DNA marker D2000

2.2 重组质粒 pMCEw2-GPI-P-selectin 的真核表达

2.2.1 ELISA 鉴定结果

转染后, 待细胞长出克隆, 挑取克隆进行 ELISA 鉴定(图 6)。

2.2.2 稳定转染细胞膜蛋白的 Western blotting 鉴定

对筛选得到的阳性细胞克隆 P6 提取膜蛋白后进行 Western blotting 鉴定, 从图中可以看出稳定转染重组质粒 pMCEw2-GPI-P-selectin 的 CHO^{dhfr} 细胞——即我们筛选出的阳性细胞 P6——膜蛋白用抗 P-selectin 抗体经 Western blotting 鉴定在分子量为 35 kD 处含有目的条带, 而普通 CHO 细胞膜蛋白对照未见任何条带。因此证明 P-selectin 已在细胞表面获得表达(图 7)。

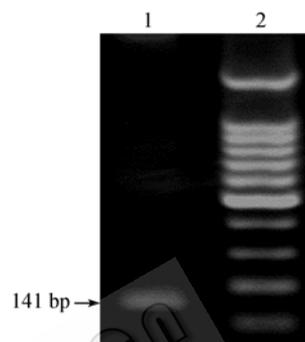


图 4 GPI 基因的 PCR 扩增琼脂糖凝胶电泳图
Fig. 4 PCR products of GPI
1: the gene of GPI; 2: DNA 100 bp ladder

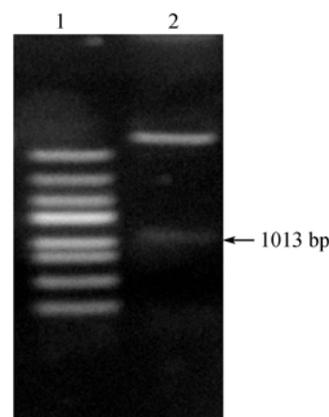


图 5 重组质粒 pMCEw2-GPI-P-selectin 酶切鉴定
Fig. 5 Restriction analysis of recombinant plasmid pMCEw2-GPI-P-selectin

1: marker III; 2: pMCEw2-GPI-P-selectin digested by *EcoR* V and *Xho* I

2.2.3 稳定表达 P-selectin 的 CHO 细胞的免疫荧光检测

以抗 P-selectin 鼠抗体及羊抗鼠-FITC 抗体处理的细胞在荧光显微镜下观察(图 8), 可见转染重组质粒 pMCEw2-GPI-P-selectin 的 CHO^{dhfr} 细胞的细胞膜上有清晰的绿色荧光, 而未转染 CHO^{dhfr} 细胞对照未见荧光, 进一步表明 P-selectin 已经锚定修饰于细胞膜上。

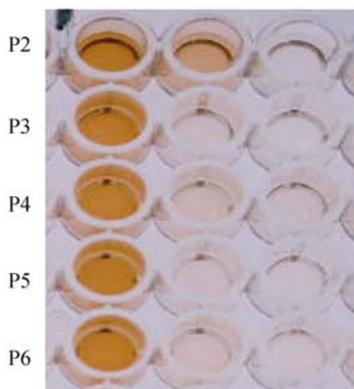


图 6 所挑克隆是否表达 P-selectin 的 ELISA 鉴定结果

Fig. 6 Identification of some clones we choosed by ELISA

1: some clones we choosed; 2: CHO; 3: ECV304; P2-P6 name of the clone we choosed

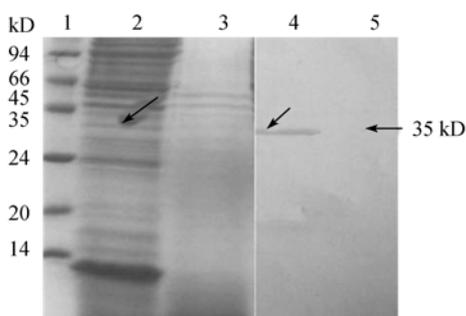


图 7 克隆提取膜蛋白后的 SDS-PAGE 凝胶电泳及 WB 分析

Fig. 7 SDS-PAGE and Western blotting analysis of the protein abstracted from the membrane

1: low molecular protein standards; 2: the protein abstracted from the membrane of P6; 3: the protein abstracted from the membrane of CHO; 4: the protein abstracted from the membrane of P6; 5: the protein abstracted from the membrane of CHO



图 8 重组质粒 pMCEw2-GPI-P-selectin 转染 CHOdhfr-细胞的间接免疫荧光检测

Fig. 8 Immunofluorescence analysis of P6

1: P6; 2: CHO^{dhfr-}

3 讨论

近年来, 有关粘附分子 P-selectin 介导的炎症反应如肾小球肾炎、心肌缺血再灌注损伤等报道逐渐使人们认识到 P-selectin 在各种炎症疾病中的重要作用^[6]。而且其在缺血再灌注、动脉粥样硬化和癌症转移过程中的作用也逐渐被人们重视^[7]。上海第二医科大学附属瑞金医院已在动物实验中证实

P-selectin 是造成肾缺血再灌注时肾小管损伤的一个重要因素^[8]。因此, 制备出针对天然 P-selectin 的抗体必将为诊断和治疗上述疾病奠定良好的基础。

P-selectin 在人体多数组织中如肝、肺、结肠、胃以及肾上腺的血管内皮细胞表达, 正常情况下为低水平表达或不表达, 受到炎症和损伤刺激后表达才显著增加, 而且有些原先不表达的脏器也出现了表达, 所以 P-selectin 还有标志脏器病变的作用。据报道, 测定血浆、尿沉渣、组织中的 P-selectin 含量, 有助于判断病变严重程度及预后^[9,10]。因此, 我们开发出针对人 P-selectin 的抗体具有较高的应用价值。

天然的 P-selectin 是一个高度糖基化的蛋白, 因此在本研究中, 我们对 P-selectin 进行真核表达, 采用了 GPI 锚定技术将 P-selectin 锚定表达于细胞膜表面, 以维持 P-selectin 的天然构象。所谓 GPI 锚定技术, 是将感兴趣的基因与具有锚定位于膜表面功能的 GPI 信号肽基因融合表达, 利用该信号肽使其表达在细胞膜表面。研究证实, 人工制备的 GPI 锚定蛋白仍然能够保持原来的构象及功能^[11-13]。利用这种方法使其表达在细胞膜表面。这种方法能保证其糖基化修饰, 这是原核表达所不能做到的。转染 CHOdhfr-细胞后, 我们在细胞膜表面检测到了其表达。为进一步进行抗体库筛选以获得针对人 P-selectin 的人源性抗体奠定了基础。

我们可以利用所获得的表面表达 P-selectin 的细胞株从本室已构建的大容量全合成人源性抗体库中筛选出针对其的人源性抗体, 为与 P-selectin 相关疾病的诊治提供有效的手段。

REFERENCES

- [1] Wagner DD. P-selectin chases a butterfly. *Clin Invest*, 1995, **95**(5): 1955.
- [2] Acheson DW, Luccioli S. Microbial-gut interactions in health and disease. Mucosal immune responses. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2004, **18**: 387-404.
- [3] Zhou T, Li X, Wu P. Effect of anti-p-selectin monoclonal antibody on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Clin Med J*, 2000, **113**: 790.
- [4] McEver RP, Beckstead JH, Moore KL, et al. GMP-140, a platelet alpha-granule membrane protein, is also synthesized by vascular endothelial cells and is localized in Weibel-Palade bodies. *Clin Invest*, 1989, **84**: 92-96.
- [5] Bevilacqua MP, Nalson RM. Selectin. *Clin Invest*, 1993, **91**: 379-384.
- [6] Faurschou M, Borregaard N. Neutrophil granules and

secretory vesicles in inflammation. *Microbes Infect*, 2003, **5**: 1317-1327.

[7] Li X, Zhou T, Ni PH, *et al.* Significance of P-selectin expression in human glomerulonephritis. *Chinese Medical Journal*, 1997, **110**(7): 512-514.
 李晓, 周同, 倪培华, 等. P-selectin 在血管性肾炎中表达的重要意义. *中国医学杂志*, 1997, **110**(7): 512-514.

[8] Bernkop-Schnurch A, Clausen AE, Guggi D. The use of auxiliary agents to improve the mucosal uptake of peptides. *Medicinal Chemistry Reviews*, 2004, **1**: 1-10.

[9] Collins CE, Cahill MR, Newland HC, *et al.* Circulating platelets are activated in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 1994, **106**: 840.

[10] Balda MS, Matter K. Transmembrane proteins of tight junctions. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2000, **11**: 281-290.

[11] Poloso N, Nagarajan S, Bumgarner GW, *et al.* Development of therapeutic vaccines by direct modification of cell membranes from surgically removed human tumor tissue with immunostimulatory molecules. *Vaccine*, 2001, **19**(16): 20-29.

[12] Poloso N, Nagarajan S, Bumgarner GW, *et al.* Designer cancer vaccines made easy: protein transfer of immunostimulatory molecules for use in therapeutic tumor vaccines. *Front Bio Sci*, 2001, **6**: 760-766.

[13] Nagarajan S, Selvaraj P. Glycolipid-anchored IL-12 expressed on tumor cell surface induces antitumor immune response. *Cancer Res*, 2002, **62**(10): 2869-2874.



科学出版社科学出版中心生物分社新书推介

生物有机光化学

王乃兴 马金石 刘扬 著

978-7-03-021340-2 ¥55.00 2008年5月30日出版

本书深入系统地论述了有机光化学与相关生物化学和生命科学的学科交叉方面的科学问题。系统地阐述了光合作用的最新进展, 从辅酶 NAD(P)H 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸及其脱氢酶分子层面上探讨了光合作用中的重要基础科学问题, 论述了视觉光化学的最新进展, 对视杆细胞和视锥细胞以及视紫红质分子等方面的重要研究进展做了充分论述。本书对光敏化、光医学、紫外光的效应和臭氧光化学、生物发光与生命光化学等重要科学问题做了详尽的论述; 对花朵的光化学现象、微生物与光化学、游离基与光化学等新问题的论述能够引起读者的广泛兴趣。

本书可作为从事有机化学、光化学、药物化学、植物化学、天然产物化学、生物化学、石油化学、化学工业、材料化学、生命科学等方面的科技人员和高等院校相关专业师生的参考书, 也可以作为有机化学、光化学、生命科学等专业的本科生和研究生的教材。



神经肌肉疾病病理学(全彩)

陈碧春 陈晓春 张文敏 编著

978-7-03-021334-1 ¥88.00 2008年5月16日出版

本书是我国第一部肌肉疾病病理学专著, 内容包括骨骼肌的组织发生、基本病理反应、各种神经肌肉疾病的发病机理和病理组织学变化, 以及肌酶组化、免疫组化、电镜观察、基因诊断等在病理诊断中的应用, 并附有彩色插图 174 幅。本书不仅有肌肉疾病的基础理论, 而且有临床病理诊断要点及实用技术。

本书适用于做研究生教材, 也为病理学、神经内科学、内科学、儿科学和运动医学等学科的科技人员进行医疗、教学、科研的参考用书



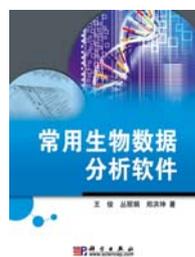
常用生物数据分析软件(配实例光盘)

王俊 丛丽娟 郑洪坤 著

978-7-03-020622-0 ¥65.00 2008年5月出版

本书较为系统全面的介绍了生物信息学分析各个方面的软件用法, 结合具体实例, 使大家应用起来更具用参照性。全书共分 8 章, 内容包括(1)Unix/Linux 操作系统介绍, 介绍了基本的 Unix/Linux 操作命令(2)数据的基本处理, 介绍了如何处理常用的生物信息学数据(3)序列的比对, 介绍了常用的比对软件的用法及其在应用过程中要注意的问题(4)基因组/基因的注释, 介绍了 Coding 和 Non-Coding 基因的预测方法(5)SNP 分析, 介绍了常用的从生物学数据中寻找 SNP 的软件(6)进化分析专题, 介绍了几个常用的用于分子进化分析的软件, 内容涉及进化树的构建, Ka/Ks 的计算等(7)基因表达分析专题, 介绍了 EST 及生物芯片分析的流程和方法(8)蛋白质结构预测, 介绍了蛋白质三维结构预测的流程及方法。

本书适合从事生命科学相关领域研究的高年级本科生, 研究生及科研工作者学习使用。



欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书(免邮费)
 邮购地址: 北京东黄城根北街 16 号 科学出版社 科学销售中心 邮编: 100717
 联系人: 周文字 联系电话: 010-64031535(带传真)
 更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>, 欢迎致电索要书目