

SCHAUM'S
ouTlines

全美经典 学习指导系列

生物化学

(第二版)

[澳] P. W. 库彻 G. B. 罗尔斯顿 等著

姜招峰 等译

830个详细疑难解答

几百个练习题

涵盖所有要点，可辅助任何一本教科书

有效提高学习成绩

易于自学



科学出版社



麦格劳-希尔教育出版集团

(Q-1094.010†)

责任编辑：谢灵玲

全球销量
超越 3000万
的

SCHAUM'S
ouTlines

“全美经典学习指导系列”

是您的最佳

学习伴侣!

40年来最畅销的教辅系列

全美著名高校资深教授倾力之作

国内重点高校任课教师全力推荐并担当翻译

省时高效的学习辅导，全面详细的习题解答

迄今为止国内最全面的教辅系列

覆盖大学理工科专业

全美经典学习指导系列

概率和统计

统计学

离散数学

Mathematica使用指南

数理金融引论

机械振动

微分方程

统计学原理(上)

统计学原理(下)

微积分

静力学与材料力学

有限元分析

传热学

近代物理学

2000工程力学习题精解

工程力学

3000物理习题精解

流体动力学

物理学基础

材料力学

2000离散数学习题精解

工程热力学

数值分析

量子力学

有机化学习题精解

3000化学习题精解

大学化学习题精解

电路

电气工程基础

工程电磁场基础

数字信号处理

数字系统导论

数字原理

电机与机电学

基本电路分析

信号与系统

微生物学

生物化学

生物学

分子和细胞生物学

人体解剖与生理学

<http://www.sciencep.com>

<http://www.mheducation.com>

ISBN 7-03-009719-X



9 787030 097194 >

Mc
Graw
Hill

ISBN 7-03-009719-X/Q · 1094

定价：40.00元

696

696

全美经典学习指导系列

生物化学

(第二版)

[澳]P.W.库彻 G.B.罗尔斯顿 等著

姜招峰 等 译



A0960443

科学出版社

麦格劳-希尔教育出版集团

2002

内 容 简 介

本书共分 17 章,通过问题解答和实例分析对生物化学的基本内容及新的进展进行了简明扼要的介绍。本书表述风格独特,基本内容以客观描述为主,选择性内容通过实例分析进行探讨。它以简明而有趣的问题和丰富的背景知识来反映概念的发展与演化,由此促进并引导读者对疑难问题的思考,激发研究探索的欲望。

本书由澳大利亚著名大学生物化学系中众多具丰富教学经验的教师撰写而成,在第一版基础上经过内容的调整和平衡,保证所有章节在深度上更适合读者。由北京联合大学教授姜招峰博士主持翻译,译文较好地保持了原书风格,力求叙述规范贴切、语言自然流畅。

本书可供生命科学专业的本科师生或自学者参考。

Philip W. Kuchel, Gregory B. Ralston et al. *Shaum's Outlines of Theory and Problems of Biochemistry, Second Edition*

ISBN:0-07-0361495

Copyright © 1997 by the McGraw-Hill Companies, Inc.

Authorized translation from the English language edition published by McGraw-Hill Companies, Inc.

All rights reserved.

本书封面贴有 McGraw-Hill 公司防伪标签,无标签者不得销售。

图字:0-2001-1768

图书在版编目 (CIP) 数据

生物化学/〔澳〕库彻 (Kuchel, P. W.) 等著;姜招峰等译. -2 版. -北京:科学出版社,2002.2

(全美经典学习指导系列)

ISBN 7-03-009719-X

I. 生… II. ①库… ②姜… III. 生物化学 IV. Q5

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2001) 第 064949 号

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

新蕾印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2002年2月第一版 开本:A4 (890×1240)

2002年2月第一次印刷 印张:28 3/4

印数:1—5 000 字数:940 000

定价:40.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

译者名单

姜招峰 陈文

魏涛 阎雁

张蕾 王卫平

译者序

作为生命科学核心基础的生物化学学科进展极为迅速，与其他学科相互渗透的程度亦愈加深入；而作为向初学者传授生物化学知识的教材和生物化学课程的特点是：内容较为抽象，信息量较大且更新速度较快。这给学习者、讲授者和编写者都带来了一定的困难。

各式各样的生物化学教材及参考书在容量、范围、深度、叙述方式和角度等方面均做了大量的探索和有益的实践，其中不乏佼佼之著。

科学出版社引进的全美经典学习指南系列《生物化学》分册（原书名为 *Schaum's Outlines of Theory and Problems of Biochemistry*）是由澳大利亚著名大学具有丰富生物化学教学经验的教师所编写。本书对生物化学的基本内容及新的进展进行了简明扼要的介绍。

本书的表述风格独特。它通过提出“有趣的问题”来引出新的主题，其解答并不完全依赖于前述的课文内容，对一个问题的解答常会导致另一个问题的出现，这易于引导读者对疑难问题的思考，并激发研究探索的欲望。基本内容以客观描述事实为主，选择性的内容是通过实例分析来探讨的。读者可利用本书中介绍的内容，至少在一个合理的深度上理解和分析这些问题。本书主要是为学习生命科学及其相关专业的大学生而编写的，对初学生物化学的学生和高年级学生都是有益的。对于讲授生物化学课程的教师而言，本书亦具有实际的参考价值。

在翻译的过程中，本人由衷地折服于作者们把深奥复杂的问题叙述得如此简单准确的能力和直面疑难问题的坦诚和科学态度，并力求在译文中保持原著中“准确而朴实”的语言风格。对译文中的不妥之处，敬请读者指教（本人的 E-Mail: Zfjiang@163bj.com）。

姜招峰

2001年11月25日

第二版前言

自从本书第一版问世以来，生物化学的某些领域已有了很大的发展，特别是分子生物学、信号转导和蛋白质结构等领域。这些领域的发展使其他领域（特别是传统的生物化学领域，如：酶动力学）黯然失色。第二版包容了这些快速发展的领域及其新的进展。第二版也给了我们一个机会来调整 and 平衡本书的内容，以保证所有章节在深度的选择上更能适应我们的读者。

近 10 年来，生物化学的主要发展是在分子生物学领域，第二版反映了这些领域的巨大变化。我们非常感谢 Emma Whitelaw 博士在第 17 章的修订过程中做出的真诚努力。此外，感谢 Anthony 博士和 Dong Chappell 博士在 DNA 动力学的易于理解方面，以及将 DNA 重组技术的发展和聚合酶链反应融入这个新版本中所付出的劳动；感谢 Glenn King 博士，Mitchell Guss 博士和 Michael Morris 博士对本书第二版蛋白质部分的重要修订，使其反映了这个领域的基本发展状况（特别是在蛋白质折叠方面）。本书重新绘制了大量的图以反映我们新的理解，由此，我们感谢 Mark Smith 先生，Eve Szabados 博士和 Michael Morris 博士在绘图方面所做出的努力。

扩充和加强了脂膜，膜功能和信号转导等部分的内容，以反映这些领域的现代进展，这是 Samir Samman 博士和 Arthur Conigrave 博士做出的努力。氮代谢这一章及核苷酸中部分内容也已扩充，而关于特殊氨基酸代谢的内容被相应地减少；这得益于 Richard Christopher-son 博士的努力，谨此致谢。

为了避免课程内容过分的膨胀而且还能反映出许多学院在酶学和酶动力学内容的教学上所进行的改进和完善，本书对这些内容进行了调整；感谢 Ivan Darvey 博士对这部分内容所提出的批评和建设性的意见。

在本版中保持了第一版的叙述风格，以简明而有趣的问题来反映这个领域中概念的发展和演化，并由此来促进对这个领域中一些疑难问题的思考和探索。

因此，本书是由许多在各自领域做出过贡献的合作者（其参与的部分如上所述）与我们共同努力完成的。

W. 库彻
B. 罗尔斯顿

第一版前言

本书是澳大利亚最大的大学生物化学系中近半数的教师合作撰写而完成的。我们在医学、牙科学、药学、兽医学和工程学等院系给 1000 多名学生讲授生物化学。那么，本书是为谁而编？其目的又是什么呢？

正如书名 (*Schaum's Outlines of Theory and Problems of Biochemistry*) 所称，本书是一本生物化学“纲要”（主要是哺乳动物生物化学），而不是该学科的全面详尽的著作。换句话说，它不是一本百科全书，对于攻读理学学士学位（或相应的学位）的大学生而言，我们希望它只是一个理解生物化学的向导。

生物化学已成为生物学和医学许多领域的基本语言；其基本规律和实验方法是所有基础生物学及其分支学科（如上所列）的基本内容。实际上，医学与生物化学之间的界线已变得越来越模糊了。因此，在本书中，我们力图通过问题的解答和列举实例对生物化学的基本规律进行了解释。在某种意义上讲，我们把这本书定义在生物化学领域；简言之，我们认为它是使用化学概念来描述发生在生命有机体中的基本过程以及通过生命有机体作用而发生的基本过程。

当然，细胞中的化学过程不只是发生在单一的溶液中，而且也与大分子的结构密切相关。因此，生物化学就不可避免地涉及到：组织结构、细胞结构、细胞器结构及其单个分子本身的结构。由于这个缘故，本书是以对下列研究内容的概要介绍作为开始的：细胞及其细胞器成分，它们是如何组成的，以及（用基本术语来讲）它们有什么生物学功能等。其后的六章主要是从化学的角度分门别类地介绍了生物化学化合物。然后是三章关于酶学和代谢调控基本规律的内容；紧随其后的是生物化学真正的核心内容：代谢途径。

对本书中内容表述的风格稍加评价是值得的。首先，我们所谓的“有趣的问题”是在书中以单词“问题”来表示的；它引出一个新的主题，其答案对于前面的课文内容可能不一定适合。我们认为这能更密切地体现和强调各类研究工作中的问题探索，包括生物化学：对一个问题的解答常会很快地导致另一个问题的出现。其次，与本系列其他分册类似，重点强调的是以一般事实形式提供的基本材料；而选择性的材料是以示例的形式体现的。这些例子中，某些是以问题的方式出现的，另一些在于特定领域中表明基本观点的特殊例子只做了简单的说明。第三点，带有答案的问题依其题号与课文中相应的部分相关。实际上，在所有的情况中学生应能够利用本纲要中的材料，至少在一个合理的深度上解答这些问题。最后一点，补充问题通常是与前述的三种形式的内容有些关系；这些问题的答案列于书后。

本书是教师们撰写的，然而，它的完成也依赖于其他人的许多努力，我们感谢他们。在打字和文字处理方面，我们感谢 Anna Dracopoulos、Bev Longghurst-Brown、Debbie Manning、Hilary McDermott、Elisabeth Sutherland、Gail Turner、Mary Walsh 以及编辑助理 Marilyn Kuchel。在书稿内容的分析评价方面，我们感谢 Ivan Darvey 博士和许多学生，而特别要感谢的是 Tiina Iisma、Glenn King、Kieran Kirk、Michael Morris、Julia Raftos 和 David Thornburn。Arnold Hunt 博士在筹备本书的早期阶段给予了帮助。我们对在这个计划实施的初期逝世的 Reg O'Brien 博士表示沉痛的悼念。他对本书的撰写的内容和用词有很高的要求，我们希望他对本书最终的构成形式示以赞同。最后我们感谢 McGraw-Hill 出版公司的 Elizabeth Zayatz 和 Marthe Grice，Elizabeth 对本书的构思给予了高度重视，并且他们二人付出了巨大的努力使本书得以出版。

W. 库彻
B. 罗尔斯顿

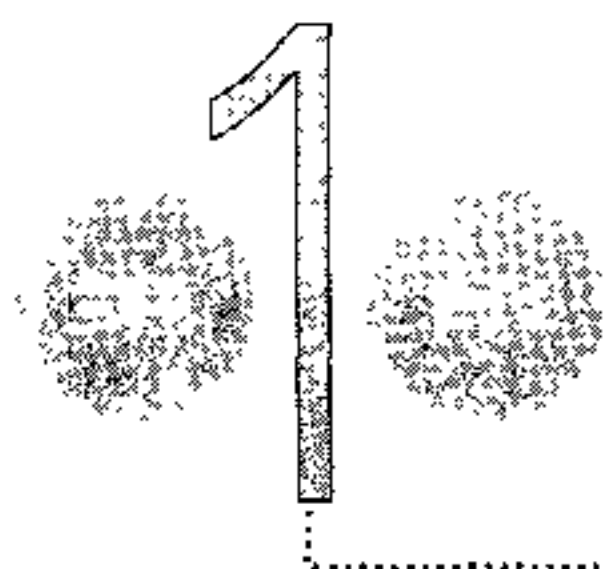
目 录

译者序	
第二版前言	
第一版前言	
第 1 章 细胞超微结构	(1)
1.1 导言	(1)
1.2 研究细胞结构与功能的方法	(1)
1.3 亚细胞器	(6)
1.4 细胞类型	(12)
1.5 细胞结构层次	(14)
第 2 章 碳水化合物	(20)
2.1 导言和定义	(20)
2.2 甘油醛	(21)
2.3 简单醛糖	(22)
2.4 简单酮糖	(24)
2.5 D-葡萄糖的结构	(26)
2.6 葡萄糖的构像	(29)
2.7 葡萄糖以外的单糖	(31)
2.8 糖苷键	(35)
2.9 多糖	(38)
第 3 章 氨基酸和肽	(44)
3.1 氨基酸	(44)
3.2 氨基酸的酸碱性质	(47)
3.3 氨基酸分析	(54)
3.4 肽键	(55)
3.5 半胱氨酸反应	(56)
第 4 章 蛋白质	(63)
4.1 导言	(63)
4.2 蛋白质的纯化与鉴定	(63)
4.3 蛋白质折叠	(70)
4.4 蛋白质结构	(73)
4.5 序列同源性与蛋白质进化	(82)
4.6 蛋白质构象的测定方法	(83)
第 5 章 蛋白质：超分子结构	(91)
5.1 导言	(91)
5.2 超分子结构的装配	(91)
5.3 蛋白质的自我聚合	(94)
5.4 血红蛋白	(98)
5.5 细胞外基质	(101)
5.6 细胞骨架	(109)
第 6 章 脂、膜、运输和信号	(128)

6.1	导言	(128)
6.2	脂的分类	(129)
6.3	脂肪酸	(130)
6.4	甘油酯	(131)
6.5	鞘脂	(134)
6.6	源自异戊二烯(萜)的脂类	(136)
6.7	脂在水中的性质	(138)
6.8	胆汁酸和胆盐	(140)
6.9	血浆脂蛋白	(141)
6.10	小泡	(142)
6.11	膜	(143)
6.12	运输	(147)
6.13	跨膜转运的分子机制	(151)
6.14	信号	(153)
第 7 章	核酸	(164)
7.1	导言	(164)
7.2	核酸及其化学组成	(164)
7.3	核苷	(166)
7.4	核苷酸	(167)
7.5	多聚核苷酸	(169)
7.6	DNA 的结构	(170)
7.7	DNA 的变性	(175)
7.8	DNA 的大小、组构和拓扑学	(178)
7.9	RNA 的结构和类型	(179)
7.10	核酸酶	(180)
第 8 章	酶的催化作用	(188)
8.1	基本概念	(188)
8.2	酶的分类	(189)
8.3	提高键断裂速率的方式	(191)
8.4	速率提高和活化能	(196)
8.5	定点诱变	(196)
第 9 章	酶动力学	(207)
9.1	导言和定义	(207)
9.2	依赖于底物浓度的酶反应速率	(208)
9.3	K_m 和 V_{max} 的图解求值	(209)
9.4	酶抑制的定义	(209)
9.5	酶抑制方程	(210)
9.6	米氏方程的基本机制	(210)
9.7	复杂的稳态方程式的推导	(211)
9.8	多反应物酶	(213)
9.9	pH 对酶反应速率的影响	(215)
9.10	酶抑制的机制	(216)
9.11	调节酶	(218)
第 10 章	代谢: 基本原理	(240)
10.1	导言	(240)

10.2	热力学	(240)
10.3	氧化还原反应	(244)
10.4	ATP 及其在生物能学方面的作用	(246)
10.5	代谢途径的控制步骤	(247)
10.6	调控信号的放大	(248)
10.7	细胞内的区室与代谢	(250)
第 11 章	糖代谢	(257)
11.1	糖酵解	(257)
11.2	丙酮酸的去向	(264)
11.3	糖异生	(267)
11.4	Cori 循环	(269)
11.5	糖原代谢	(270)
11.6	进入糖酵解途径的其他碳水化合物	(272)
11.7	细胞液中 NAD^+ 的再生成	(274)
11.8	糖酵解作用的调控	(276)
11.9	糖酵解过程中激素的作用	(277)
11.10	磷酸戊糖途径	(280)
第 12 章	柠檬酸循环	(285)
12.1	导言	(285)
12.2	柠檬酸循环反应	(286)
12.3	柠檬酸循环的能量学	(289)
12.4	柠檬酸循环的调节	(289)
12.5	丙酮酸脱氢酶复合体	(291)
12.6	丙酮酸羧化酶	(292)
12.7	柠檬酸循环的两性特点	(293)
12.8	乙醛酸循环	(293)
第 13 章	脂类代谢	(299)
13.1	导言	(299)
13.2	脂类的消化	(299)
13.3	脂蛋白代谢	(301)
13.4	贮存脂类的动员	(305)
13.5	脂肪酸的氧化	(305)
13.6	由脂肪酸产生的乙酰 - CoA 的去路; 生酮作用	(308)
13.7	脂肪的生成	(310)
13.8	磷脂与鞘脂类的合成	(314)
13.9	前列腺素	(318)
13.10	胆固醇的代谢	(321)
13.11	脂类代谢的调控	(325)
第 14 章	氧化磷酸化作用	(332)
14.1	导言	(332)
14.2	电子传递链的成分	(332)
14.3	电子传递链的构成	(334)
14.4	电子传递与 ATP 合成的偶联	(336)
14.5	线粒体产生的质子数与传递给氧的电子数的比率	(337)
14.6	质子传递机制的模型	(338)

14.7	ATP 合酶	(340)
14.8	ATP 合成的机制	(341)
14.9	腺嘌呤核苷酸转入与转出线粒体	(342)
第 15 章	氮代谢	(346)
15.1	氨基酸的合成及食物来源	(346)
15.2	蛋白质的消化	(351)
15.3	氨基酸代谢动力学	(355)
15.4	氨基酸的分解代谢	(356)
15.5	多余氮的处理	(358)
15.6	嘧啶与嘌呤代谢	(361)
15.7	一碳化合物的代谢	(369)
15.8	卟啉代谢	(372)
第 16 章	遗传物质的保持和复制	(378)
16.1	导言	(378)
16.2	DNA 的半保留复制	(378)
16.3	DNA 复制的拓扑学	(379)
16.4	DNA 复制的调控	(382)
16.5	细菌 DNA 复制的酶学	(384)
16.6	细菌中复制起始的分子事件	(388)
16.7	细菌染色体复制的终止	(389)
16.8	真核生物 DNA 复制的起始、延伸和终止	(390)
16.9	DNA 复制的抑制剂	(391)
16.10	DNA 损伤的修复	(393)
16.11	DNA 重组和基因分离	(394)
16.12	聚合酶链反应	(396)
第 17 章	基因表达和蛋白质合成	(405)
17.1	导言	(405)
17.2	遗传密码	(405)
17.3	细菌中的 DNA 转录	(407)
17.4	真核生物中的 DNA 转录	(409)
17.5	转录因子	(409)
17.6	RNA 转录物的加工	(411)
17.7	基因组的组构	(413)
17.8	转录的抑制剂	(413)
17.9	mRNA 翻译的装置	(414)
17.10	细菌中的 RNA 翻译	(416)
17.11	真核生物中 RNA 的翻译	(418)
17.12	蛋白质的翻译后修饰	(418)
17.13	翻译的抑制剂	(419)
17.14	基因表达的调控	(421)
	补充问题答案	(429)



细胞超微结构 <

1.1 导言

问题：什么是生命的基本单位？

一切动、植物及微生物都是由细胞组成的。在细菌中，细胞的容量只有 10^{-18} L，而在乌贼的大神经细胞中，细胞的容量可以达到毫升级。典型的哺乳动物细胞直径为 $10\sim 100\mu\text{m}$ ，比最小的可见微粒还要小。它们通常具有易弯曲的结构，其起划界作用的膜处于动态的波动状态。不同的动、植物组织具有不同类型的细胞，其不同不仅在于它们结构不同，也在于具有不同的代谢活动。

例 1.1

荷兰 Delft 布商列文虎克 (1632~1723 年) 自己磨制了透镜，并制造了可以放大 200 倍的简单显微镜。1676 年 10 月 9 日，他寄了一封长达 17 页半的信给伦敦皇家协会。在信中，他描述了不同水样中的微生物。这些小的有机物包括我们现在所知道的原生动物和细菌。因此，列文虎克被认为是第一个发现细菌的人。他后来的功绩还包括精子及许多生物种类红细胞的识别。

干细胞发育成具有特殊功能细胞的过程称为分化。这在胚胎中发生的最为活跃，可以从一个由精子与卵子融合而成的细胞分化为大量不同的组织。

细胞可以识别与其类似的细胞，进而结合成一致的器官，这主要依赖于细胞膜上特定的糖蛋白（见第 2 章）。

1.2 研究细胞结构与功能的方法

光学显微镜

许多细胞及其细胞器可与染料发生强烈的反应。因此，将组织切片后，它们可以很容易地通过光学显微镜区分开。有成百上千的对组织成分具有不同选择性的染料被用于这项工作，它们构成了组织学的基础。

例 1.2

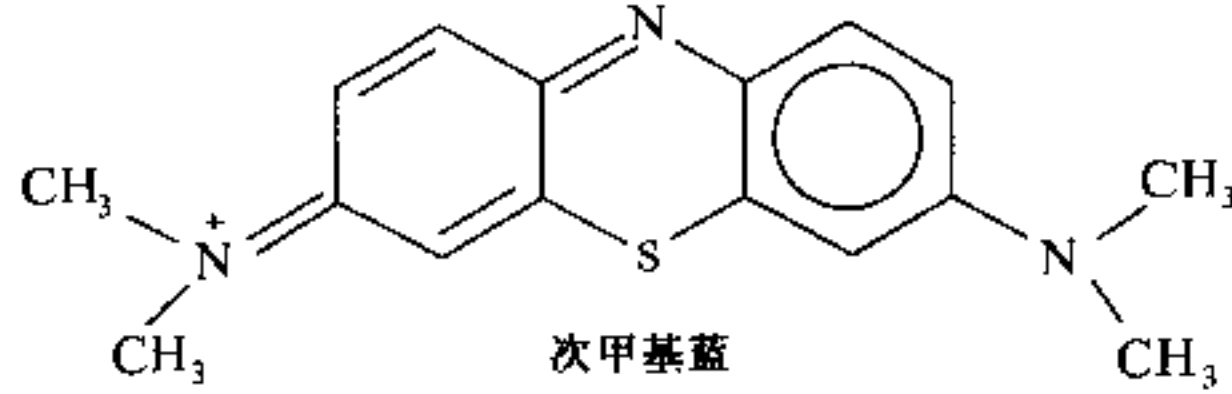
在对患者的医疗生化评价中，一项常用的评价是在显微镜下观察血样，以判定炎性白细胞的数量和类型。将薄薄的一层血涂抹在玻璃片上，并将其置于甲醇中以固定细胞，这个过程使细胞固定并保持其原有形状。细胞通常由几滴两种染液的混合物染色。最常用的是 Romanowsky 染液，这是以 19 世纪它们发明者的名字命名的。常用的血液染色过程是由 J. W. Field 发明的：先用苯胺蓝 I 和次甲基蓝对细胞染色，接着用曙红染色。各种染料都溶解于一个简单的磷酸盐缓冲液中。这种方法可以将细胞核染为蓝色，细胞质染为粉色，部分亚细胞器既可以是粉色也可以是蓝色。以不同的染色方式为基础，至少有五种不同的白细胞可以被识别。而且，胞内有机物，如疟疾的寄生疟原虫被染为蓝色。

我们对组织的不同染色的确切化学机制了解得还很少。因此，组织学在这方面仍然只能凭经验。然而，染料化学结构的某些特点可以对它们的选择性作出一些解释。它们一般是多

环、杂环的芳香化合物，丰富的键合作用使其具有鲜艳的色彩。在许多情况下，它们最初是从植物中分离出来的，带有净正或负电荷。

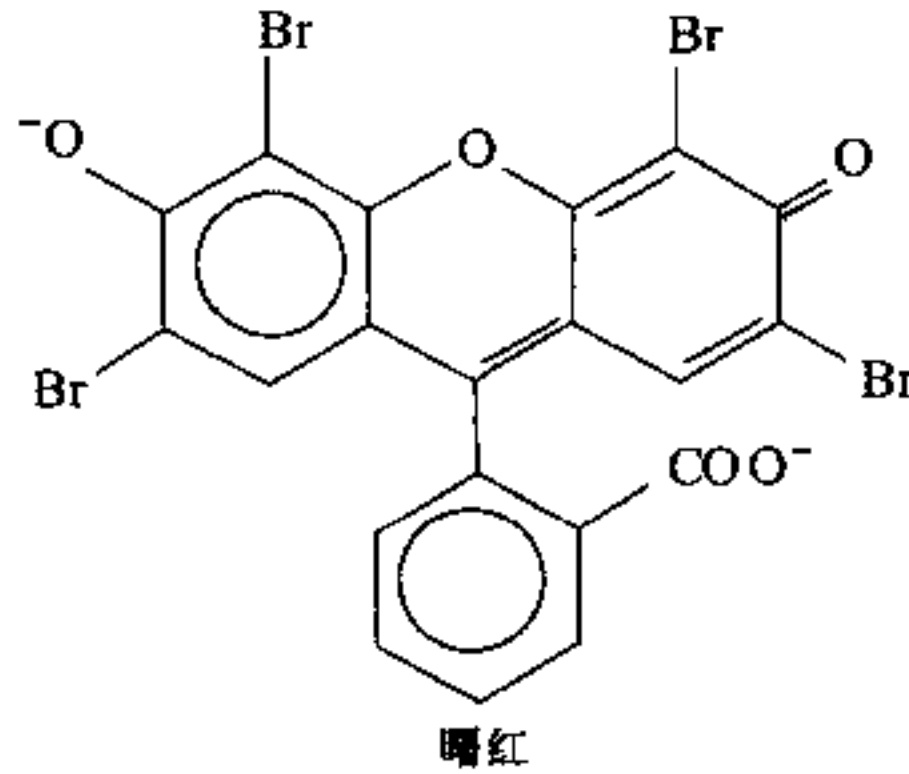
例 1.3

次甲基蓝将细胞核染为蓝色，



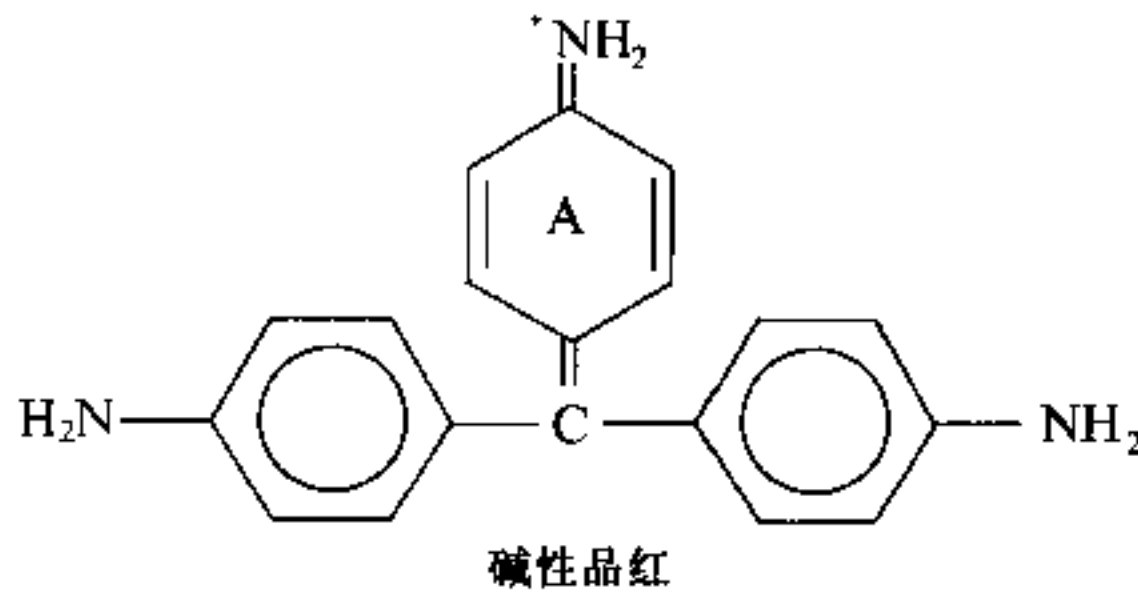
染色机制：次甲基蓝上带正电荷的氮原子与 DNA 和 RNA 磷酸酯中的氧阴离子发生相互作用（见第 7 章）。

曙红将细胞中富含蛋白质的区域染为红色，

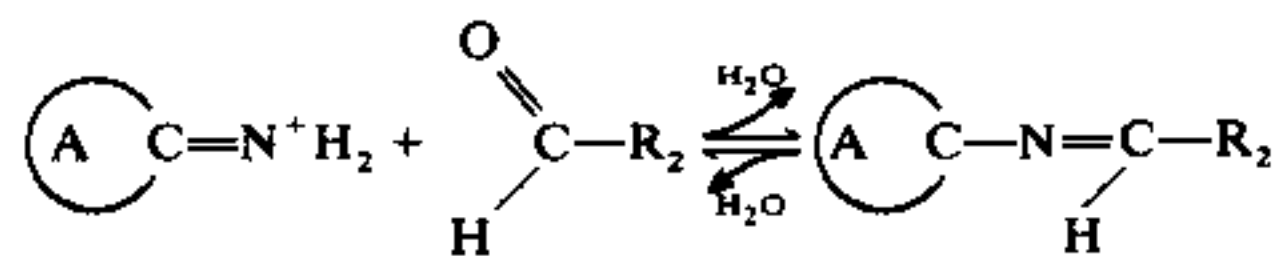


染色机制：曙红在 pH7 时为二价阴离子，与在此 pH 值带正电的精氨酸、组氨酸、赖氨酸等蛋白质基团静电相连。因此，这种染料可以显现细胞中蛋白质丰富的区域。

PAS（高碘酸希夫）染料用于碳水化合物的组织染色，它也应用于电泳凝胶（见第 4 章）中糖蛋白（含有碳水化合物的蛋白质；见第 2 章）的染色。该混合染料包含强氧化物高碘酸（HIO₄）和碱性品红：



染色机制：高碘酸在顺-二醇键（即葡萄糖 C2、C3 间的键）打开了糖环，形成了两个醛基和碘氧基（IO₃-）。于是，染料的 =⁺NH₂ 基团与醛基形成了所谓的希夫碱键，将染料与碳水化合物相连。其本反应是：



碱性品红的环 A 转变为芳香环，其中心碳原子为正碳离子（带正电的碳原子），使得复合物

呈粉色。

电子显微镜

通过电子显微镜，可以得到放大 200 000 倍的组织切片。将样品放在高真空、电子束照射的环境下，电子被样品的不同部分散射。这样，在样品染色时，不同的电子密度代替了光学显微镜使用的有色染料。常用的染料是四氧化锇，它与蛋白质的氨基酸相连，使得电子密集区域呈黑色。

例 1.4

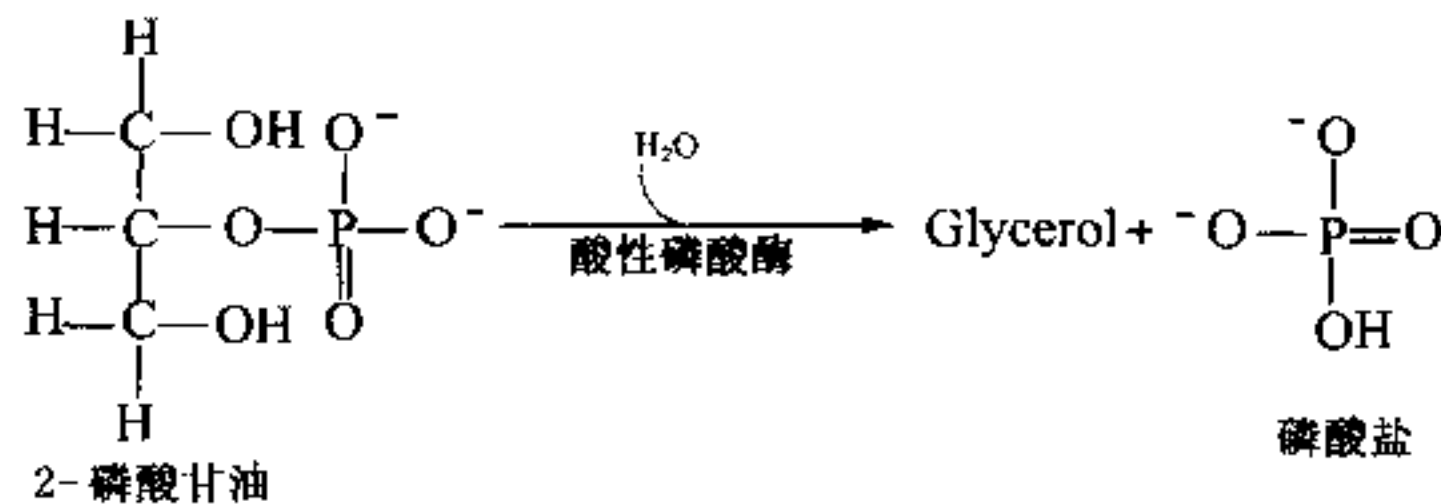
电磁辐射光的波长限制了显微镜的分辨率。设备的分辨率是指通过该设备观察时，可以分辨的两物体间的最小间距，大约是所用电磁波长的一半。被约 100 000V 电力加速的高速电子也具有电磁波的特性，波长为 0.004nm。所以，理论上电镜可达到的分辨率为 0.002nm。因为许多球蛋白，如血红球蛋白的直径大于 3nm，这使得至少在理论上，甚至蛋白质分子的某些特点也是可区分的。但是实际上，这种分辨率一般是达不到的。

组织化学和细胞化学

组织化学研究整个组织，而细胞化学是研究单个细胞。这些学科的技术为在细胞和组织中定位特定的化合物和酶提供了方法。组织切片与目标酶的底物一起孵育，这一反应的产物与存在于孵育混合物中的色素发生反应。如果样品在孵育前固定得很好，并且固定过程没有对酶造成损伤，那么，这个过程将会使组织薄片中含酶的细胞在显微镜下显现。若具有更高的分辨率，还可以使含有该酶的亚细胞器显现。

例 1.5

酸性磷酸酶存在于许多细胞的溶酶体中（见 1.3），其中包括肝细胞。它催化从不同磷酸酯上水解下磷酸基团，如下式：



在 Gomori 过程中，样品在含有 2-磷酸甘油的缓冲液中于 37℃ 孵育 30min。接着，将样品上的磷酸酯洗脱，并将其放在另一含有硝酸铅的缓冲液中。2-磷酸甘油可自由地穿过溶酶体膜，而带有更多电量的磷酸盐却不行。所以，所有由磷酸酶水解下的磷酸盐都被留在了溶酶体内。由于 Pb^{2+} 可以渗入溶酶体，它们会以磷酸铅的形式沉淀。这些沉淀的部位在电子及光学显微图上都显现为深色斑点。

放射自显影

放射自显影是对细胞内具有放射活性的化合物进行定位的一项技术，它可以在光学或电子显微镜下进行。活细胞首先暴露于胞内组分的放射活性前体。被标记的前体是有一个或多个氢原子 (^1H) 被放射性氚 (^3H) 所代替的化合物。如， $[\text{}^3\text{H}]$ 胸腺嘧啶脱氧核苷是 DNA 的标记前体，而 $[\text{}^3\text{H}]$ 尿嘧啶核苷是 RNA 的标记前体（见第 7 章）。不同含氚的氨基酸也适用。被标记的前体进入细胞并与适当的大分子结合。接下来，这些细胞被固定，样品被嵌于树脂或石蜡中，进而被切成薄片。

放射活性是通过在暗室中用照相的卤化银感光剂涂在切片表面上测定的。等感光剂晾干后，将其放置在一个不透光的盒子内，放射性衰变使表面的感光剂曝光。曝光的时间依赖于样品的放射性大小，一般情况下，光镜需要几天至几周，而电镜需要几个月。电镜需要长的

暴光时间是由于切片很薄 ($<1\mu\text{m}$), 其放射性很少。将制备物通过常规摄影技术显影并固定。这样, 细胞内含有放射性分子的区域表面就覆盖了银颗粒。在光镜下, 银颗粒为小黑点; 在电镜下, 为缠绕的黑线。值得注意的是, 整个过程只有在前体分子可以穿过细胞膜, 且细胞处于将化合物组合成大分子的生命阶段时才有效。

例 1.6

分泌蛋白的合成及从腺体的运输过程可以通过自显影技术示踪。例如, 将注射了 $[^3\text{H}]$ 亮氨酸的大鼠以不同的时间间隔处死, 对其前列腺进行放射自显影。在电镜下, 注射 4min 后的样品细胞粗面内质网 (RER) 上出现了银颗粒, 表明 $[^3\text{H}]$ 亮氨酸已经通过附着在 RER 上的核糖体从血液整合入蛋白。30min 后, 高尔基体及分泌空泡上也出现了颗粒, 反映了标记分泌蛋白从 RER 到这些细胞器的胞内运输。在注射后, 放射性蛋白从这些细胞中释放出来, 这一点被腺体腔上的银颗粒所证实。

超离心

在通过细胞分级分离将细胞器分离出来之前, 这些亚细胞器的生化功能是无法研究的。20 世纪 40 年代后期, George Palade 和他的同事们证实, 大鼠肝匀浆可以通过差速离心分为几个部分。由于不同细胞器形状、大小及在溶液中密度的不同, 因此沉降速度也不同。例 1.7 介绍了一个典型实验。

例 1.7

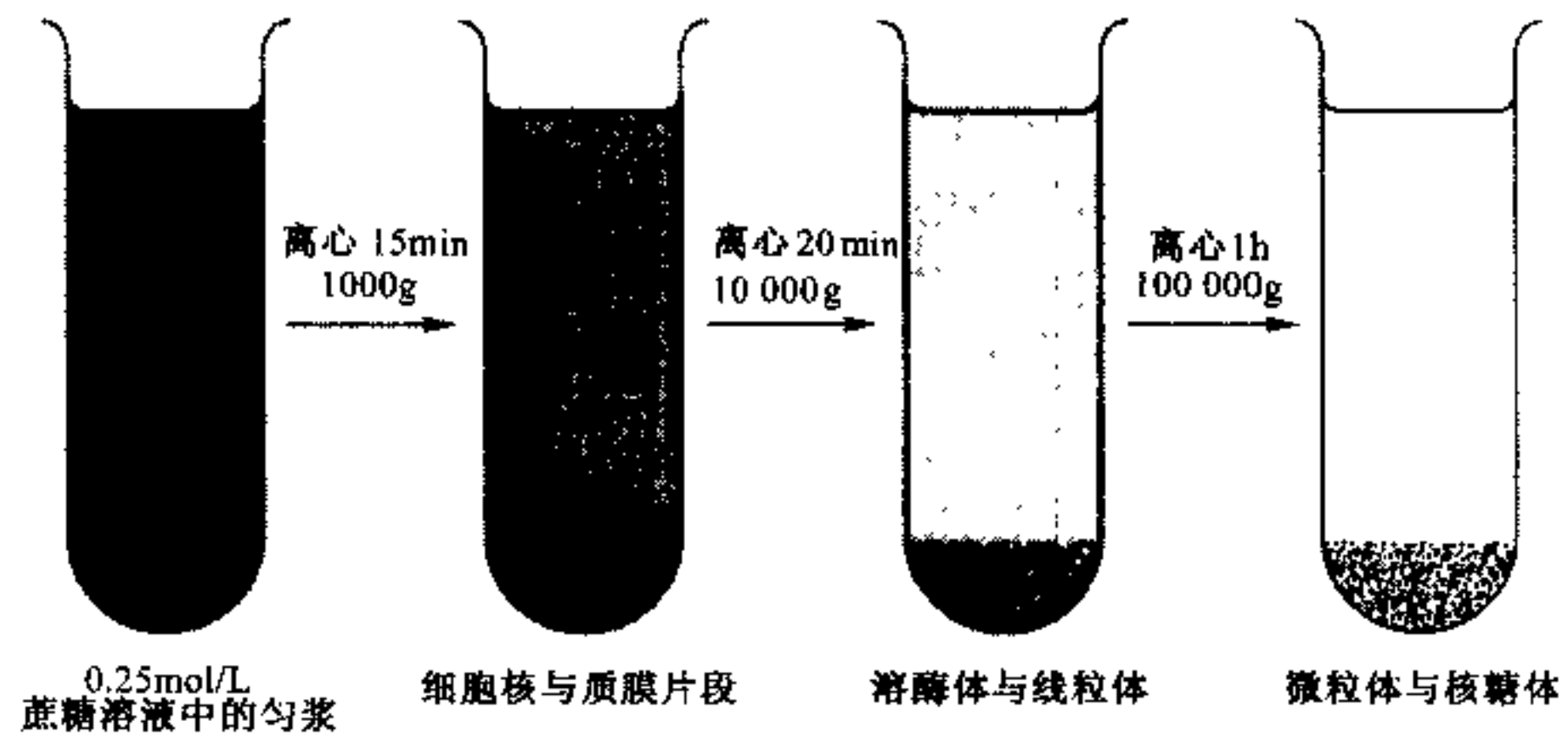


图 1-1 通过细胞匀浆的差速离心分离亚细胞器

把肝放于 0.25mol/L 的蔗糖溶液中, 在一玻璃筒 (Potter-Elvehjem 匀浆器) 中用一旋

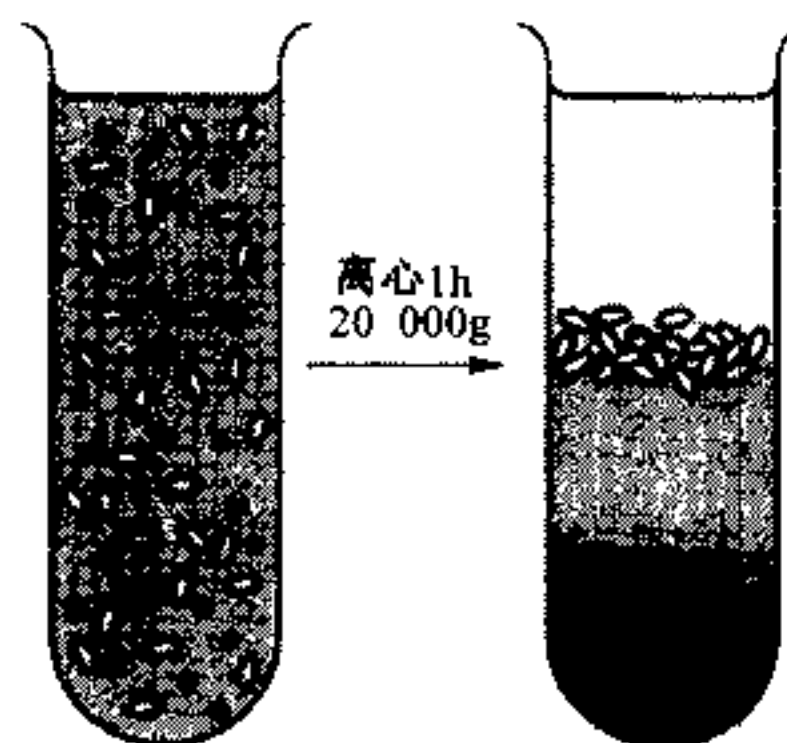


图 1-2 细胞器的等密度离心。阴影部分表示增加的溶液密度

转、紧密的活塞将其打碎。要小心不要在匀浆时把细胞器破坏。接着，将样品离心（图 1-1）。用 7cm 的样品管，以 1000g 离 15min，细胞核最先沉降于样品管的底部。

用 10 000g 高速离心 20min，会产生主要由线粒体组成的沉淀，但其中也掺杂有溶酶体。继续用 100 000g 离心 1h，产生的沉淀是核糖体和包含内质网的微粒体。经过这一步后，可溶性蛋白和其他溶质被留在了上清液（上层溶液）中。

密度梯度离心（亦称作等密度离心）也可以用于分离不同的细胞器（图 1-2）。匀浆在不连续或连续的蔗糖溶液浓度梯度中被分层，离心至亚细胞颗粒与其环境溶液达到密度平衡。

问题：是否可以用与等密度离心相似的方法分离不同的大分子？

可以。事实上，在基因工程中，就有一种方法使用不同的 CsCl 密度梯度来制备和纯化 DNA 片段。然而，达到平衡所需的时间要长很多，并且，所需的离心速度也比分离细胞器要高得多。

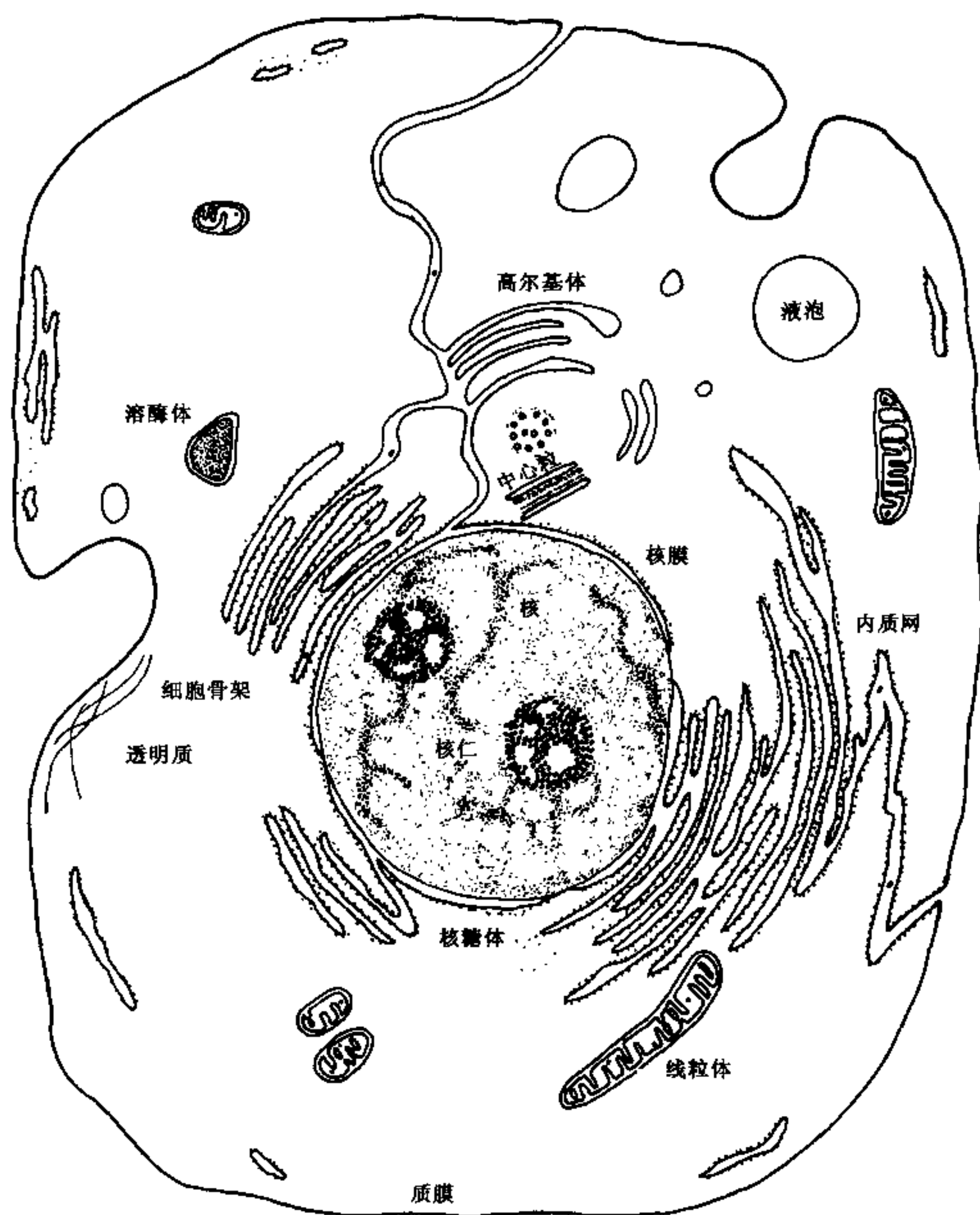


图 1-3 哺乳动物细胞图示。其中细胞器为近似的相对大小