

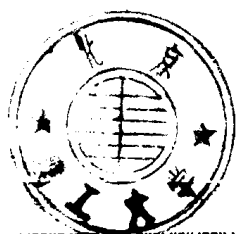
生物化学与分子生物学 实验常用数据手册

吴冠芸 潘华珍 吴 翠 主编

科学出版社

生物化学与分子生物学
实验常用数据手册

吴冠芸 潘华珍 吴 翠 主编



965177

科学出版社

1999

内 容 简 介

本书分为两部分,分别收集生物化学与分子生物学实验常用数据多种。由于学科涉及面广,编汇时不在求全,而是求精、求新、求实用,而且大量数据以图表形式出现,查阅方便快捷。目前国内图书馆尚难觅到这样资料丰富的同类工具书。分子生物学业已渗透到生物学、医学、药学等各个学科。本手册可供各有关专业的教学、科研、临床技术人员参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

生物化学与分子生物学实验常用数据手册/吴冠芸等主编.

-北京:科学出版社,1999

ISBN 7-03-006873-4

I. 生… I. 吴… III. ①生物化学-实验数据-手册
②分子生物学-实验数据-手册 IV. Q5-83

中国版本图书馆 CIP 数据核字(98)第 19107 号

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

新 蕾 印 刷 厂 印 刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1999年5月第一版 开本:787×1092 1/16

1999年5月第一次印刷 印张:29 1/2

印数:1—3 600 字数:668 000

定价:58.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈新欣〉)

编写人员名单

主编 吴冠芸 潘华珍 吴 翠
编者 吴冠芸 潘华珍 吴 翠 缪时英
张俊武 黄秉仁 陈雨亭 刘国仰
袁建刚 胡松年

前 言

分子生物学是当前生命科学中最重要的前沿学科,发展迅速并已深深渗透到生命科学的各个领域,从而出现了分子遗传学、分子病理学、分子药理学、分子免疫学等学科。生物化学是分子生物学的基础,两者密不可分。因此,有关生物化学和分子生物学技术和方法的有关资料对很多从事生命学科的工作者都显得十分需要。

本书广泛汇集了生物化学与分子生物学的一些重要技术和方法中常用的试剂、反应条件等方面的资料,主要以表或图的形式表达,便于读者在进行研究或实验时参考使用。一些原需繁琐计算的数据,从表格或图中随手可以查到。由于本书主要采用图和表的方式,因此与同样篇幅的图书相比,信息量大。为了便于非生物化学与分子生物学工作领域的读者理解,书中对一些基本概念也作了简单的介绍。这类书国外也不多见,90年代出版的手册,仅有LABFAX系列。其中已出版的有分子生物学、细胞生物学、细胞培养、生物化学、酶学及蛋白质等,在国内图书馆还很少见到。

全书共27章,前13章包括生物化学实验的基本常用数据,后14章包括分子生物学领域的常用新技术、新资料。生物化学与分子生物学的资料浩如烟海,如何取舍是十分重要的问题。我们选择本书内容的基本原则:①常用,不求全。尤其在生物化学部分,有些基本材料目前仍然应用甚多,我们尽量做到精而实用。②资料新。在常用的基础上求新,尽量追随到近年的文献。如在蛋白质物理化学常数一章中收集了新的白介素及分化抗原决定簇(CD)的有关资料。又如在核酸序列测定一章中还介绍了核酸序列数据库的查寻和应用;克隆载体方面选择了新而常用的载体。我们还尽量将查阅到的资料吸取其中之精华,编在书内。但限于水平及力量,仍可能存在许多不足之处,期待广大读者赐教。

另外,本书所用的名词,大部分以科学出版社出版的《英汉-汉英生物化学词汇》及《英汉化学化工词汇》为准。分子生物学发展甚快,不断有新的名词出现,两本词汇中查不到的,按意翻译并附英文原文。

目 录

1. 酸、碱、盐和有机溶剂的基本数据 非离子合成聚合物的特性及指示剂

1.1. 酸、碱、盐及有机溶剂的基本数据	1	图 1-1 聚合物的结构式	8
表 1-1 常用酸及碱的性质	1	1.3. 指示剂	9
表 1-2 各种浓度的酸碱贮存液的近似 pH 值	2	1.3.1. 常用的酸碱指示剂	9
表 1-3 常用酸及碱溶液的浓度和密度	2	表 1-7 一些常用的酸碱指示剂	9
表 1-4 常用盐的性质	5	1.3.2. 通用指示剂	10
表 1-5 常用有机溶剂的性质	6	表 1-8 两种配方的通用指示剂在不同 pH 时所显示的颜色	10
1.2. 非离子合成聚合物	7	1.3.3. 混合指示剂	10
表 1-6 一些非离子合成聚合物的物理 与化学特性数据	8	表 1-9 混合指示剂的变色范围	10
		参考文献	12

2. 缓冲溶液

2.1. 两种缓冲液的应用范围	13	表 2-3 0.1 mol/L 磷酸缓冲液的配制	19
2.2. 生物体系的适应性及化学活性	13	表 2-4 0.1 mol/L 醋酸缓冲液的配制	19
图 2-1 非双性离子缓冲液的 pH 范围	14	2.4. 具有缓冲能力的生理盐水	20
图 2-2 双性离子缓冲液的 pH 范围	15	2.5. 标准缓冲液的配制	20
表 2-1 非双性离子缓冲液的组成	16	表 2-5 标准缓冲液的配制	20
表 2-2 双性离子缓冲液的特性	17	参考文献	20
2.3. 缓冲液的配制	19		

3. 螯合剂、变性剂、巯基试剂及表面活性剂

3.1. 螯合剂	21	3.3. 巯基试剂	24
表 3-1 螯合剂：溶解度与 pK_a	21	表 3-5 巯基试剂	25
表 3-2 螯合剂：稳定常数	22	3.4. 表面活性剂	25
3.2. 变性剂	22	图 3-1A 去垢剂微团的结构	26
3.2.1. 变性剂的作用机制	22	图 3-1B 去垢剂溶解膜蛋白的作用	26
3.2.2. 混合变性剂	23	表 3-6 去垢剂与表面活性剂的物理化 学性质	26
3.2.3. 变性剂的特性	23	图 3-2 去垢剂的结构式	30
表 3-3 溶解型变性剂	24	参考文献	30
表 3-4 沉淀型变性剂	24		

4. 干燥剂、致冷剂、浓缩剂及硅化剂

4.1. 干燥剂	31	4.3. 浓缩剂	34
表 4-1 实验室中常用干燥剂的吸水能力	31	4.3.1. 蔗糖	34
表 4-2 干燥器内常用的干燥剂	31	4.3.2. 聚乙二醇	34
表 4-3 气体用干燥剂	32	表 4-10 固体聚乙二醇的数据	34
4.2. 致冷剂	32	4.3.3. 葡聚糖凝胶	35
表 4-4 冰与食盐组成的致冷剂	32	4.3.4. 聚丙烯酰胺凝胶	35
表 4-5 水和混合盐类组成的致冷剂	32	4.3.5. 聚乙烯吡咯烷酮	35
表 4-6 冰和混合盐类组成的致冷剂	33	4.4. 硅烷化剂	35
表 4-7 冰和盐类组成的致冷剂	33	4.4.1. 二氯二甲基硅烷或二甲基二氯硅烷	36
表 4-8 液化气体致冷剂	33	4.4.2. 其他硅烷化剂	36
表 4-9 固体二氧化碳与有机溶剂组成的致冷剂	33	4.4.3. 硅烷化剂的使用方法	36
		参考文献	36

5. 离子交换剂

5.1. 离子交换树脂	38	表 5-9 DEAE Sepharose CL-6B 交联琼脂糖离子交换剂的数据	45
表 5-1 常用阴离子交换树脂及其数据	38	表 5-10 Sepharose Fast Flow 的技术数据	46
表 5-2 常用阳离子交换树脂及其数据	40	表 5-11 Sepharose High Performance 的技术数据	46
5.2. 纤维素离子交换剂	41	5.4.2. Bio-Gel A 系交联琼脂糖离子交换剂	47
表 5-3 Whatman 公司的商品纤维素离子交换剂	42	表 5-12 DEAE Bio-Gel A 和 CM Bio-Gel A 的技术数据	47
表 5-4 DEAE-Sephacel 纤维素离子交换剂	42	5.5. Source 系离子交换剂	47
表 5-5 Cellex 系纤维素离子交换剂	43	表 5-13 Source 的技术数据	48
表 5-6 纤维素离子交换剂常用的抑菌剂	43	5.6. MonoBeads 系离子交换剂	48
5.3. 葡聚糖系离子交换剂	43	表 5-14 三种功能基 MonoBeads 柱的性能	48
表 5-7 离子交换交联葡聚糖的技术数据	43	表 5-15 不同尺寸 MonoBeads 柱的技术数据	49
表 5-8 离子交换交联葡聚糖的应用数据	44	5.7. Toyopearl 系离子交换剂	49
5.4. 琼脂糖系离子交换剂	44	表 5-16 Toyopearl 系离子交换剂	49
5.4.1. Sepharose 系的离子交换剂	44	参考文献	50

6. 凝胶过滤介质

6.1. 葡聚糖凝胶	51	表 6-1 Sephadex G 型葡聚糖凝胶的数据	51
6.1.1. Sephadex G 型葡聚糖凝胶的特性要点	51	6.1.2. Sephadex G 型葡聚糖凝胶的溶	

胀.....	52	6.4.1. Bio-Gel P 型凝胶的特性要点	57
表 6-2 Sephadex G 型葡聚糖凝胶溶胀		所需时间	52
6.1.3. 凝胶的回收与保存.....	52	6.5. 交联聚苯乙烯凝胶 Bio-Beads	58
6.1.4. 嗜脂性葡聚糖凝胶 Sephadex		6.5.1. Bio-Beads 层析凝胶的特性要点	58
LH 型的特性要点	53	表 6-10 Bio-Beads S-X 型的数据	59
表 6-3 嗜脂性葡聚糖凝胶 Sephadex		59
LH 型的数据	53	6.6. Superdex 凝胶过滤介质	59
表 6-4 嗜脂性葡聚糖凝胶 Sephadex		6.6.1. Superdex 凝胶的特性要点 ..	59
LH 型的柱床体积	54	表 6-11 制备级 Superdex 凝胶过滤介	60
6.2. 聚丙烯酰胺葡聚糖	54	质的数据	60
6.2.1. 聚丙烯酰胺葡聚糖 Sephacryl		6.7. 聚乙烯醇型凝胶 Toyopearl	60
S 型的特性要点	54	6.7.1. 聚乙烯醇型凝胶 Toyopearl 的	60
表 6-5 聚丙烯酰胺葡聚糖 Sephacryl S		特性要点.....	60
型凝胶的数据	54	表 6-12 聚乙烯醇型凝胶 Toyopearl 的	60
6.3. 琼脂糖凝胶	55	数据	60
6.3.1. 琼脂糖凝胶 Sepharose	55	6.8. 凝胶过滤用分子量标准	61
表 6-6 琼脂糖凝胶的数据	55	表 6-13 凝胶过滤用低分子量标准的组	61
6.3.2. 琼脂糖凝胶 Superose	56	成	61
表 6-7 Superose 的数据	56	表 6-14 凝胶过滤用高分子量标准的组	61
6.3.3. 琼脂糖凝胶 Bio-Gel A	56	成	61
表 6-8 琼脂糖凝胶 Bio-Gel A 型的数		表 6-15 凝胶过滤用分子量标准品...	62
据	57	参考文献.....	62
6.4. 聚丙烯酰胺凝胶 Bio-Gel P	57		

7. 亲和层析

7.1. 亲和层析	63	表 7-3 有间隔臂的琼脂	65
表 7-1 亲和层析常用的基质	64	7.3. 吸附剂的配基	68
7.2. 制备亲和吸附剂的材料	64	表 7-4 用于亲和吸附剂的配基	68
表 7-2 活化的琼脂	64	参考文献.....	70

8. 透析袋、微孔滤膜和超滤膜

8.1. 透析袋	71	表 8-4 醋酸纤维滤膜	75
8.1.1. 纤维素膜透析袋.....	71	8.2.2. 硝酸纤维滤膜.....	75
表 8-1 Spectro por 再生纤维素膜透		表 8-5 硝酸纤维滤膜	75
析袋的数据	71	8.2.3. 印迹及其他工作中用的硝酸纤	76
表 8-2 纤维素酯膜透析袋的数据	73	维滤膜.....	76
8.1.2. 透析袋的预处理.....	74	表 8-6 用于印迹工作的硝酸纤维滤	76
8.1.3. 透析袋的保存.....	74	膜	76
8.2. 微孔滤膜和印迹杂交膜	74	8.2.4. 尼龙滤膜.....	76
8.2.1. 醋酸纤维滤膜.....	74	表 8-7 用于微孔过滤的尼龙滤膜	76
表 8-3 微孔滤膜的种类	75	表 8-8 用于印迹实验的尼龙滤膜	77

8.2.5. 聚四氟乙烯滤膜.....	77	8.3.6. 新型聚砜滤膜滤器	80
表 8-9 常用的聚四氟乙烯滤膜	77	表 8-19 新型聚砜滤膜滤器	80
8.2.6. 聚砜滤膜.....	77	8.4. 超滤膜	80
表 8-10 常用的聚砜滤膜	77	表 8-20 Amicon 圆形超滤膜的规格	
8.2.7. 聚偏二氟乙烯滤膜.....	77	和有效过滤面积的数据	81
表 8-11 聚偏二氟乙烯滤膜	78	表 8-21 Amicon 圆形超滤膜对溶质	
8.3. 针筒式滤器或针头式滤器	78	的排阻率	81
表 8-12 一次性使用的针头式滤器	78	表 8-22 Amicon 圆形超滤膜的流速.....	82
表 8-13 一次性使用滤膜滤器的说明	78	表 8-23 Amicon diaflo 超滤膜的数据	
8.3.1. 玻璃纤维预滤和终滤器	78	83
表 8-14 玻璃纤维滤器	79	表 8-24 Amicon 卷式中空纤维超滤膜	
8.3.2. 一次性醋酸纤维滤膜滤器	79	的数据	83
表 8-15 一次性醋酸纤维滤膜滤器	79	表 8-25 Amicon 卷式中空纤维超滤膜	
8.3.3. 尼龙滤膜滤器	79	的效能及其应用数据	84
表 8-16 尼龙滤膜滤器	79	表 8-26 Amicon Y 系卷式中空纤维超	
8.3.4. 聚四氟乙烯滤膜滤器	79	滤膜对溶质的排阻率	84
表 8-17 聚四氟乙烯滤膜滤器	80	表 8-27 Amicon P 系中空纤维滤膜对	
8.3.5. 硝酸纤维滤膜滤器	80	溶质的排阻率	85
表 8-18 硝酸纤维滤膜滤器	80	参考文献.....	86

9. 超速离心

9.1. 相对离心力的计算	87	度及百分浓度的换算	93
9.2. 离心时间的计算.....	87	图 9-2 稀释成百分比浓度(w/w)的	
图 9-1 计算近似 RCF 的列线图	88	蔗糖稀释曲线	93
9.3. 离心转头的应用	89	表 9-9 25℃时氯化铯溶液的密度、折	
表 9-1 离心转头的选择	89	光指数与浓度	94
9.4. 密度梯度离心	89	表 9-10 20℃时蔗糖溶液的密度、折	
表 9-2 沉降速度离心和沉降平衡离		光指数与浓度	95
心的特点	90	表 9-11 Metrizamide 与 Nycodenz 溶	
表 9-3 常用的梯度介质物理特性与		液的特性	96
应用	90	表 9-12 聚蔗糖溶液的性质	96
表 9-4 等密度梯度介质的应用	91	图 9-3 稀释成摩尔浓度(mol/L)的	
表 9-5 各种大分子在蔗糖梯度溶液		蔗糖稀释曲线	97
中的大约密度	91	9.6. 离心转头的减速计算	97
表 9-6 各种大分子在一些梯度介质		9.7. 离心转头和离心管的使用和保护	97
中的大约密度	92	表 9-13 离心管和离心瓶材料的特性	
表 9-7 动物细胞器在下列梯度介质		98
中的大约密度	92	表 9-14 离心管和离心瓶的使用和保	
表 9-8 分离人不同类型血细胞的商		护	98
品介质	92	表 9-15 各种材料的化学抗性	99
9.5. 一些常用梯度介质的密度、折光指数与浓		表 9-16 消毒与灭菌的方法	103

9.8. 离心机的计算机控制	103	表 9-18 应用 NTV 转头分离质粒	
表 9-17 质粒 DNA 的 5 步分离法		DNA (20 C)	104
(NTV90 转头)	104	参考文献	104

10. 放射性核素

10.1. 有关放射性核素的一些名词	105	表 10-6b 几种常用的放射性核素衰变	
10.2. 一些与放射线有关的单位	106	表(2)	111
表 10-1 与放射线有关的单位	106	10.9. 放射性的测量	112
10.3. 一些应用于生物化学研究中的放射性核素	106	10.9.1. 各种测量仪器的计数效率...	112
表 10-2 一些应用于生物化学研究中的放射性核素	107	表 10-7 各种测量仪器的计数效率的比较	112
10.4. 生物化学和分子生物学研究工作中最常用的几种 β 衰变的放射性核素	108	10.9.2. 液体闪烁测量	112
表 10-3 生物化学和分子生物学研究工作中最常用的几种 β 衰变的放射性核素	108	表 10-8 切仑克夫计数的计数效率	112
10.5. 生物化学和分子生物学研究工作中最常用的几种 γ 射线的放射性核素	109	表 10-9 几种最常用闪烁体的部分理化性质	113
表 10-4 生物化学和分子生物学研究工作中最常用的几种 γ 射线的放射性核素的数据	109	表 10-10 一些实验室中常用的闪烁液配方	113
10.6. 放射性国际标准单位(SI)换算	109	10.9.3. 放射自显影	113
10.6.1. 放射性活性单位换算	109	表 10-11 放射自显影常用的核素及其在照相乳胶中的射程	114
表 10-5 Bq/Ci 换算	110	表 10-12 三种不同乳胶检测方法的比较	114
10.7. 放射性衰变校正计算	110	10.10. 辐射的防护	114
10.8. 几种最常用的放射性核素衰变表	110	表 10-13 对 β 粒子的屏蔽	115
表 10-6a 几种常用的放射性核素衰变表(1)	111	表 10-14 对 γ 射线的屏蔽	115
		10.11. 放射性污染的清除	115
		表 10-15 清除放射性污染的方法	116
		参考文献	116

11. 生理体液与培养基

11.1. 生理体液	117	基	121
表 11-1 Krebs Ringer 溶液	117	表 11-9 L-15 培养基	122
表 11-2 等渗(平衡盐)溶液的配制方法	118	表 11-10 199 培养基	122
表 11-3 人造海水	119	表 11-11 RPMI-1640 培养基	123
11.2. 各种培养基的配方	119	表 11-12 Ham 培养基	123
表 11-4 BME 培养基	119	表 11-13 改良的 MEM 培养基	124
表 11-5 MEM 培养基	120	11.3. 分子克隆中常用的培养基	125
表 11-6 McCoy 5A 培养基	120	11.3.1. <i>E. coli</i> 及酵母培养基	125
表 11-7 Trowel T-8 培养基	121	表 11-14 <i>E. coli</i> 及酵母培养基	125
表 11-8 Waymouth MB 752/1 培养基		表 11-15 Complete minimal (CM) dropout 培养基	126

表 11-16 LB (Luria-Bertzani) 培养基	127	表 11-27 软琼脂培养基	129
表 11-17 Minimal 培养基	127	表 11-28 诱导培养基	129
表 11-18 M9 培养基	127	表 11-29 抗生素溶液的配制	130
表 11-19 M63 培养基	127	11.3.3. 保存培养基	130
表 11-20 NZYCM 培养基	127	表 11-30 细菌和噬菌体储存培养基	131
表 11-21 NZYM 培养基	128	11.3.4. 固体培养基	131
表 11-22 NZM 培养基	128	表 11-31 YPD, Minimal 及 CM dro- pout 盘配制	131
表 11-23 Rich 培养基	128	表 11-32 5-氟乳清酸盘	131
表 11-24 SOB 培养基	128	表 11-33 Xgal 盘	131
表 11-25 SOC 培养基	128	表 11-34 α 氨基己二酸盐盘	132
表 11-26 高浓度肉汤	128	表 11-35 刀豆氨酸盘	132
11.3.2. 含有琼脂或琼脂糖的培养基	128	表 11-36 环己酰亚胺盘	132
		参考文献	132

12. 数据处理

12.1. 有效数字	133	12.4.1. 准确度	135
12.2. 误差	133	12.4.2. 精密度	135
12.2.1. 系统误差	133	12.4.3. 灵敏度	135
12.2.2. 偶然误差	134	12.5. 统计学的一些基本概念和计算公式	135
12.2.3. 责任误差	134	12.5.1. 标准差	136
12.3. 误差的表示方法和计算	134	12.5.2. 标准误	136
12.3.1. 平均误差	134	12.5.3. 显著性的测定 (t 值的计算)	137
12.3.2. 标准误差	134	表 12-1 相当于机率 5%、1% 及 0.1% 的 t 值 (t 值表)	139
12.3.3. 绝对误差	134	参考文献	140
12.3.4. 相对误差	135		
12.4. 与质量控制有关的几个基本概念	135		

13. 安全防护

13.1. 不稳定的化学药品及防护	141	13.5. 非电离辐射危害的来源	144
13.2. 危险的化学混合物及防护	141	13.6. 放射性核素的防护 (见第 10 章)	145
13.3. 对有害微生物的防护	141	表 13-4 联合国化学危险品分类	145
13.3.1. 病源体的分类	142	表 13-5 欧洲规定的危险品符号	145
表 13-1 A 类病源体	142	表 13-6 欧洲规定的安全符号	146
表 13-2 B 类病源体	142	表 13-7 毒品的毒性及毒品和爆炸物 防护的有效措施	147
13.3.2. 病源体的防护	143	表 13-8 对各种不同试剂的防护材料	151
表 13-3 对不同感染源的有效防护	143	图 13-1 危险化学药品及警告标志	152
13.4. 致癌、致诱变、致畸	143	表 13-9 高压消毒压力与温度的关系	153
13.4.1. 化学分类	143	参考文献	153
13.4.2. 天然产物	144		
13.4.3. 按功能分类	144		

14. 氨基酸、多肽及蛋白质沉淀分离

14.1. 蛋白质水解	154	色反应	159
表 14-1 化学法水解蛋白质	154	表 14-7 几种重要活性多肽的结构	159
14.2. 氨基酸	155	14.4. 蛋白质的沉淀分离	161
表 14-2 氨基酸的简写、三联密码及 化学性质	155	14.4.1. 盐析法	161
表 14-3 氨基酸的物理化学常数	156	表 14-8a 0℃下由 S ₁ 提高到 S ₂ 时每 100 毫升加固体硫酸铵的 克数	162
14.3. 多肽	157	表 14-8b 室温下由 S ₁ 提高到 S ₂ 时每 升加固体硫酸铵的克数	163
14.3.1. 多肽的合成	157	14.4.2. 低温乙醇沉淀法	164
表 14-4 合成多肽的支持物	157	表 14-9 不同浓度乙醇的配制方法	164
表 14-5 固相合成时基团保护的方法	158	参考文献	165
表 14-6 树脂上定性检测氨基酸的颜			

15. 蛋白质的物理化学常数

15.1. 蛋白质的浓度测定	166	表 15-4 血浆凝血因子的物理化学性 质	180
表 15-1 测定蛋白质浓度的方法	166	表 15-5 分化抗原决定簇(CD)的物化 性质及功能	181
15.2. 常用重要的蛋白质的性质及功能	167	表 15-6 一些不属 CD 的重要的粘附 分子	188
15.3. 细胞因子	174	参考文献	189
表 15-2 白细胞介素家族(ILs)的来 源及功能	174		
表 15-3 除白介素以外的一些重要细 胞因子的来源及功能	176		

16. 蛋白质电泳

16.1. 聚丙烯酰胺凝胶电泳	190	16.1.5. 上样体积	192
16.1.1. 原理	190	表 16-8 齿深 25mm 时,上样体积与 齿宽、齿厚的关系	193
16.1.2. 凝胶浓度的选择	190	16.1.6. 分子量标准	193
表 16-1 凝胶浓度与蛋白质分离范围	191	表 16-9 标准蛋白质的分子量	193
16.1.3. 凝胶的配置	191	16.1.7. 凝胶染色	194
表 16-2 不同浓度分离胶的制备	191	表 16-10 凝胶染料的种类及特点	194
表 16-3 成层胶的制备	191	16.1.8. 印迹技术	194
表 16-4 肽类分离时各部分凝胶的制 备	191	表 16-11 常用固相膜的种类和特点	195
16.1.4. 缓冲液的选择	192	表 16-12 印迹技术的常用封闭物	195
表 16-5 电泳缓冲液的组成	192	表 16-13 印迹膜上的蛋白质染色	196
表 16-6 样品缓冲液的组成	192	表 16-14 偶联酶的种类及特点	196
表 16-7 Tricine 胶的样品缓冲液的配 制, 2X	192	16.1.9. 问题及解决方法	197
		表 16-15 疑点指南	197

16.2. 等电聚焦	198	表 16-18 电聚焦缓冲液组分与 pH 间的关系	200
16.2.1. 原理	198	16.3. 双向凝胶电泳	201
16.2.2. pH 梯度	199	表 16-19a 第一相电泳条件	201
表 16-16 蛋白质的 pI 标准	199	表 16-19b 第二相电泳条件	202
16.2.3. 染色	199	表 16-20 双向凝胶电泳的蛋白质标准	202
表 16-17 等电聚焦电泳的染色与检测	199	参考文献	204
16.2.4. 制备等电聚焦	200		

17. 蛋白水解酶

表 17-1 酶纯度测定方法	206	表 17-5 内切水解酶	209
表 17-2 氨基肽酶	207	表 17-6 蛋白水解酶抑制剂	211
表 17-3 羧肽酶	208	表 17-7 几种有关合成与代谢酶的抑制剂	214
表 17-4 特异与非特异蛋白水解酶	208	参考文献	215

18. 几种重要蛋白质的特性

18.1. 糖蛋白	216	18.3. 糖蛋白与蛋白聚糖的合成	223
18.1.1. 糖蛋白结构的特点	216	表 18-9 糖转移酶的种类	224
表 18-1 天然糖蛋白的糖链联结形式	216	表 18-10 糖蛋白翻译后的修饰	225
表 18-2 糖蛋白的联结方式	217	图 18-2 糖链的生物合成途径	226
表 18-3 O-联结寡糖的核心结构	218	18.4. 血浆脂蛋白	227
图 18-1 与天冬酰胺连接的寡糖, 其主要类型的构造	218	表 18-11 脂蛋白的物理性质及组成	227
表 18-4 糖蛋白末端寡糖的结构	219	表 18-12 血浆载脂蛋白的性质及功能	228
表 18-5 糖蛋白寡糖链的单糖与单糖端基异构联结方式	219	18.5. 免疫球蛋白	228
18.1.2 糖蛋白的分离纯化	220	图 18-3 血浆脂蛋白的一般结构示意图	229
表 18-6 常用外源凝集素的糖特异性	220	图 18-4 IgG 结构模式图	229
18.2. 蛋白聚糖	221	图 18-5 Ig 结构示意图	230
18.2.1. 蛋白聚糖的结构特点	221	表 18-13 人免疫球蛋白的理化特性	231
表 18-7 糖胺聚糖的二糖重复单位	222	表 18-14 人免疫球蛋白的生物学功能	231
表 18-8 蛋白聚糖的糖链与核心蛋白的联结	223	参考文献	231

19. 蛋白质的化学修饰

表 19-1 蛋白质选择性化学修饰常用的试剂	232	表 19-3 蛋白质修饰后逆行的酶	239
表 19-2 化学修饰蛋白质常用的特殊试剂	233	19.1. 蛋白质的氨基酸残基修饰后的化学性质	240
		表 19-4 修饰氨基酸的鉴定方法	240

19.2. 蛋白质修饰的特殊要求	241	顺序及修饰基的供应者	241
19.3. 修饰后蛋白质的生理作用	241	表 19-6 蛋白质修饰作用的抑制剂	242
表 19-5 蛋白质修饰的识别区氨基酸		参考文献	242

20. 核酸及其组成成分

20.1. 基本结构	243	20.5. 常用的核酸换算公式及某些核酸的性 质	250
图 20-1 碱基、核苷及核苷酸的结构	244	表 20-5 常用的核酸换算公式	250
图 20-2 修饰碱基的结构	244	表 20-6 常见核酸的长度和分子量	251
图 20-3 DNA 中的碱基配对	245	图 20-4 DNA 长度与分子量的关系	251
20.2. 物理化学性质	245	20.6. 核酸的纯化与浓缩	252
表 20-1 碱基、核苷及核苷酸的性质	245	表 20-7 核酸纯化与浓缩的方法	252
表 20-2 三核苷酸的物理化学性质	246	表 20-8 用乙醇沉淀时的盐溶液	252
20.3. 核苷酸的衍生物	247	图 20-5 Centricon 的装置	253
表 20-3 核苷酸的衍生物	247	表 20-9 离心小柱(Centricon)特性	253
20.4. 核酸含量的测定	249	表 20-10 离心小柱(microSpin co- lumns)特性	254
表 20-4 核酸含量的测定方法	249	参考文献	254

21. 核酸的凝胶电泳

21.1. 凝胶及其浓度的选择和配制	255	胶的配制(改进方法)	259
表 21-1 不同浓度琼脂糖的分离范围	255	表 21-12 凝胶阻滞分析	260
表 21-2 DNA 在聚丙烯酰胺凝胶中 的有效分离范围	255	表 21-13 分析 DNA-蛋白质复合物的 琼脂糖-丙烯酰胺平板电泳 凝胶配制	260
表 21-3 琼脂糖电泳中可采用的琼脂 糖型号和应用范围	256	21.2. 电泳缓冲液	260
表 21-4 不同浓度聚丙烯酰胺凝胶的 配制	257	表 21-14 常用的电泳缓冲液	260
表 21-5 分离核糖核蛋白体与聚核糖 核蛋白体聚丙烯酰胺凝胶的 配制	257	表 21-15 变性琼脂糖凝胶电泳	261
表 21-6 双向电泳分离 RNA 片段凝 胶的配制	258	表 21-16 电泳加样缓冲液	262
表 21-7 小 RNA 的电泳分离	258	21.3. 凝胶中核酸的染色	262
表 21-8 双向电泳分离 DNA 限制酶 片段凝胶的配制	258	表 21-17 凝胶中核酸的染色	263
表 21-9 双向变性电泳分离 DNA 片 段梯度凝胶的配制	259	21.4. 核酸分子量标准参照物	263
表 21-10 双向电泳分离寡核苷酸凝 胶的配制	259	图 21-1 DNA 分子量标准参照物一 览图	264
表 21-11 双向电泳分离寡核苷酸凝		表 21-18 λ 噬菌体 DNA 限制酶片段 长度(bp)	264
		表 21-19 pBR322 DNA 限制酶片段 长度(bp)	265
		表 21-20 ϕ X174 DNA 限制酶片段长 度(bp)	265
		表 21-21 脉冲场电泳(PFGE)分子量 标准参照物	266
		表 21-22 RNA 分子量标志物	266

表 21-23 RNA 分子量标准参照物	267	参考文献	267
----------------------	-----	------	-----

22. 核酸研究的工具酶——限制性内切酶与甲基化酶

22.1. 限制性内切酶的分类和识别序列	268	22.5. 酶末端的改造及应用	291
表 22-1 三类限制性内切酶的特性	268	表 22-12 平整末端连接产物可被重新切割的限制酶	291
表 22-2 具有回文结构的 4 与 6 核苷酸识别序列	269	表 22-13 粘性末端连接产物可被重新切割的限制酶	299
表 22-3 具有回文结构的 5 核苷酸识别序列	271	表 22-14 补齐 5' 端突出单链连接构建限制酶新切割位点	302
表 22-4 识别序列大于 6 核苷酸的限制酶	273	表 22-15 除去 3' 端突出单链连接构建限制酶新切割位点	303
表 22-5 识别被一个或数个核苷酸间隔的回文序列的限制酶	273	22.6. 甲基化酶	304
表 22-6 有多个识别位点的限制酶	274	表 22-16 对序列特异甲基化作用敏感性不同的若干对同裂酶	305
表 22-7 识别非回文序列的限制酶	275	表 22-17 限制酶识别序列甲基化后与酶活力的关系	306
表 22-8 以字母排列的限制酶识别序列	276	表 22-18 应用甲基化改变限制酶的切割特异性	316
22.2. 同裂酶	278	表 22-19 应用甲基化改变限制酶的切割特异性	317
表 22-9 同裂酶	279	表 22-20 DNA 甲基化转移酶及其特性	318
22.3. 酶的切割方式	284	参考文献	319
22.4. 酶的反应条件	285		
表 22-10 商品化限制酶的反应条件	286		
表 22-11 有星号活性的一些限制酶	290		

23. 其他核酸研究工具酶

23.1. DNA 聚合酶	320	聚合酶的特性	323
23.1.1. 大肠杆菌 DNA 聚合酶 I (全酶)	320	23.1.6. 逆转录酶	324
图 23-1 DNA 聚合酶 I 的作用方式	320	表 23-3 依赖于模板的 DNA 聚合酶的比较	324
图 23-2 DNA 聚合酶的作用方式 (交换反应)	320	23.2. RNA 聚合酶	325
23.1.2. 大肠杆菌 DNA 聚合酶 I 大片段 (Klenow 片段)	321	23.2.1. SP6 噬菌体 RNA 聚合酶	325
23.1.3. T4 噬菌体 DNA 聚合酶	321	23.2.2. T3 与 T7 噬菌体 RNA 聚合酶	325
23.1.4. T7 噬菌体 DNA 聚合酶	321	23.3. 核酸酶	326
23.1.5. Taq DNA 聚合酶	322	23.3.1. BAL 31 核酸酶	326
表 23-1 Perkin Elmer 公司的一些耐热 DNA 聚合酶的特性	322	图 23-3 结合 BAL 31 核酸酶的外切活性与内切活性缩短 DNA 片段的示意图	326
表 23-2 其他公司的一些耐热 DNA		23.3.2. S1 核酸酶	326
		23.3.3. 绿豆核酸酶	326

23.3.4. S7 核酸酶	327	23.7. 末端修饰酶	330
23.4. 核糖核酸酶	327	23.7.1. T4 噬菌体多核苷酸激酶	330
23.4.1. 核糖核酸酶 A	327	图 23-6 T4 多核苷酸激酶的激酶反应	330
图 23-4 核糖核酸酶 A 的作用方式	327	图 23-7 T4 多核苷酸激酶的交换反应	330
23.4.2. 核糖核酸酶 T1	327	23.7.2. 碱性磷酸酶	331
图 23-5 核糖核酸酶 T1 的作用方式	327	表 23-5 T4 噬菌体多核苷酸激酶的特性	331
23.4.3. 核糖核酸酶 H	328	23.7.3. 末端脱氧核苷酸转移酶	332
23.5. 脱氧核糖核酸酶	328	23.8. DNA 结合蛋白	332
23.5.1. 脱氧核糖核酸酶 I	328	23.8.1. 单链 DNA 结合蛋白	332
23.5.2. 外切核酸酶 III	328	23.8.2. RecA 蛋白	332
23.5.3. λ 噬菌体外切核酸酶	329	23.8.3. DNA 拓扑异构酶 I 和 II	332
23.5.4. T7 核酸酶	329	23.9. 核酸工具酶的应用	333
23.6. 连接酶	329	表 23-6 DNA 和 RNA 聚合酶的应用	333
23.6.1. T4 噬菌体 DNA 连接酶	329	表 23-7 核酸酶的应用	334
表 23-4 T4 噬菌体 DNA 连接酶的特性	329	表 23-8 连接酶及其他酶的应用	334
23.6.2. 大肠杆菌连接酶	330	参考文献	335
23.6.3. T4 噬菌体 RNA 连接酶	330		
23.6.4. Taq DNA 连接酶	330		

24. 杂交分析

24.1. 核酸杂交滤膜	336	表 24-9 典型的预杂交/杂交溶液	341
表 24-1 用于固定核酸的滤膜的性质	336	表 24-10 对于不同应用的预杂交/杂交溶液及杂交温度	341
表 24-2 各种类型固定滤膜的推荐使用	337	表 24-11 典型的杂交后冲洗条件	342
24.2. 影响杂交的因素	338	24.4. 使用寡聚核苷酸探针的滤膜杂交	342
表 24-3 影响核酸杂交体 T_m 的因素	338	24.4.1. 单一的寡聚核苷酸探针杂交	342
表 24-4 T_m 计算公式	338	表 24-12 寡聚核苷酸浓度计算资料	342
表 24-5 影响核酸杂交速率的因素	339	表 24-13 不同长度及碱基组成的寡聚核苷酸的 T_m ($^{\circ}\text{C}$)	344
24.3. 试剂和杂交条件	339	24.4.2. 混合的寡聚核苷酸探针杂交	345
表 24-6 杂交分析中使用的高盐溶液	339	表 24-14 不同氨基酸的密码选择	345
表 24-7 滤膜杂交常用的阻塞剂	340	参考文献	345
表 24-8 对阻塞剂选择的推荐	340		

25. 核酸探针的非放射性标记与检测

25.1. 引言	346	种方法示意图	363
25.2. 标准指示剂系统	347	25.5. 印迹步骤	364
图 25-1 四种非放射性标记物的结构	347	25.5.1. 斑点印迹	364
25.2.1. 地高辛配基系统	348	25.5.2. Southern 印迹	364
25.2.2. 生物素系统	348	25.5.3. Northern 印迹	364
25.2.3. 荧光素系统	348	25.6. 用非放射性核酸探针进行杂交	364
25.2.4. 二硝基苯基系统	348	25.6.1. 用 DIG 标记的探针进行杂交	365
25.2.5. 碱性磷酸酶和辣根过氧化物酶系统	349	表 25-5 DIG 标记探针的杂交	365
25.3. 标准的标记、杂交和检测方法	349	25.6.2. 其他非放射性探针的杂交	366
表 25-1 标准标记、杂交和检测方法的综合	349	25.7. 检测	367
25.4. 核酸探针的非放射性标记	349	25.7.1. 光学检测	367
25.4.1. DNA 标记	350	25.7.2. 化学发光检测	368
表 25-2a 用于非放射性标记的主要试剂	351	25.7.3. 检测试剂	369
表 25-2b 核酸探针的一些非放射性标记方法	354	25.8. 非放射性探针膜的重新杂交	370
图 25-2 PCR 原理示意图	358	25.8.1. 化学发光检测后从膜上移去 DIG 标记 DNA 或寡核苷酸探针的试剂和方法	370
25.4.2. RNA 的标记	359	25.8.2. 化学发光检测后从膜上移去 DIG 标记的 RNA 探针的试剂和方法	371
25.4.3. 寡脱氧核苷酸的标记	360	25.9. 故障咨询	371
表 25-3 寡脱氧核苷酸的标记反应	361	25.9.1. 检测的灵敏度低	371
表 25-4 任一核苷酸混合物的平均加尾长度和掺入比率	361	25.9.2. 高本底	373
图 25-3 合成非放射性核酸探针的各		参考文献	373

26. 核酸序列分析

26.1. 末端终止法测序	375	377
26.1.1. 末端终止法测序有关缓冲液	375	26.1.3. 模板的选择和制备	377
26.1.2. 双脱氧核苷酸的结构图及其测序核苷酸混合液	376	表 26-5 末端标记引物测序法模板 DNA 的用量	378
表 26-1 Taq DNA 聚合酶常规测序核苷酸混合液成分	376	表 26-6 银染法所需 DNA 模板量	378
表 26-2 Taq DNA 聚合酶 Deaza-GTP 测序核苷酸混合液成分	376	表 26-7 ABI 公司荧光标记 ddNTP 热循环测序所需 DNA 模板量	378
表 26-3 银染法 DNA 测序核苷酸混合液成分	377	26.1.4. 测序引物	378
表 26-4 Sequenase 测序终止液成分	377	表 26-8 不同长度的引物相当于 10 pmol 的 ng 数	378
		表 26-9 测序引物的种类及其顺序	379