

# 实用生物化学 原理和技术

B. L. 威廉斯 编  
(英) K. 威尔逊

科学出版社

## 内 容 简 介

本书系统而全面地介绍了在应用生物化学研究中所包含的一些基本原理和技术。全书共分三大部分。第一部分讲述了与生化工作有关的一些基本概念和研究途径；第二部分是分离方法(包括离心技术、层析技术和电泳技术)；第三部分是分析方法(包括光谱技术、放射性同位素技术、电位测定、电势测定和极谱技术,以及测压技术)。书中每一章的结尾向读者推荐了进一步阅读的材料。

本书简明扼要,可供大专院校生物系(包括医学院校基础医学)师生,以及从事生化研究的初级人员和科研、临床、生产等方面的实验室工作人员阅读和参考。

Edited by B. L. Williams  
and K. Wilson

## PRINCIPLES AND TECHNIQUES OF PRACTICAL BIOCHEMISTRY

Edward Arnold, 1975

### 实用生物化学原理和技术

[英] B. L. 威廉斯 K. 威尔逊 编

王海云 冯北元 译

\*

科学出版社出版

北京朝阳门内大街137号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

\*

1979年7月第一版 开本:787×1092 1/32

1979年7月第一次印刷 印张:9 1/4

印数:0001—46,550 字数:199,000

统一书号:13031·1033

本社书号:1453·13—10

定价: 0.75 元

## 译 者 的 话

本书是由英国 B. L. 威廉斯和 K. 威尔逊等八位理工学院生物化学系的教师为生物系大学生提供实用生物化学的必要基础而联合编写的。作为大学生现代生物学丛书之一。

现代生物化学的研究已渗入到生命科学的每个领域，为现代生物学、医学作出了巨大的贡献，并且将继续推动着生物学、医学和农林畜牧业的发展。生物化学研究的突飞猛进，很重要是由于使用了物理学新技术的结果。因此，对于生物系各专业的学生，以及从事各学科研究的人员来说，都有必要掌握和认识各种生物化学技术的使用和原理。本书为这方面的读者提供了有关的技术和原理，作为进行生物化学研究在方法学上的入门指导。

本书不是一本关于各种实用生化技术的具体操作手册，也不是从纯理论的角度来论述各种生物化学技术的原理，而是考虑到生物系大学生在数学和物理学基础方面的不足，从实用的角度，用了不太长的篇幅，系统而全面地介绍了开展生物化学研究的方法和可以使用的各种技术，用足够的理论基础来讲解每一种技术的原理，并且对各种技术的选择、使用要点、所需材料的特性、优缺点及应用等进行了概要的介绍。本书不能完全解决各种生化技术的实际应用问题，对此，读者还须进一步参阅有关技术的专门书籍。

本书作者使用了系统国际单位。为我国读者方便起见，对于体积单位我们仍旧采用了升和它的分值制。

译文承中国医学科学院基础医学研究所潘华珍及王振刚

等同志在百忙之中予以审校。在翻译过程中得到了我室张致一、王焕葆等同志的帮助。在审校工作中还得到曾泽培、郭尧君、沙逸仙以及史以庆、徐一树等同志的热情帮助,在此特表衷心的感谢。

本书第一、二、三、四、六章由王海云翻译,第五、七、八章由冯北元翻译。译文中很多专业名词和术语基本上根据已出版的专业词汇进行翻译,但因涉及的专业面较广,并受翻译和专业知识水平所限,错误在所难免,希望读者给予指正。

译者

1978年3月于北京

## 序 言

在认识细胞和亚细胞活动过程方面的飞速发展，主要是由于使用了定量的“物理学”方法的结果。在生物学课程中对生物化学所给予的重视意味着生物系的学生必须熟悉那些精细的分析技术，对于这点，他们在物理学和数学方面的基础是不够理想的。在很多情况下，迫于使用那些他们不完全理解的分析技术，他们把这些联合在一起的仪器当作“机器”或“暗盒”，而对它们的功能、操作原理、使用限度等等则一无所知。学生们常用这种无知来“解释”在他们自己的实验资料中所出现的各种错误。

要在一个有限的讲课和个别辅导的时间内给出一个平衡而又协调的生物化学课程，教师就必须在生物化学的理论和实践方面作出适当的安排。一般，重点是放在分子结构与功能、代谢途径和酶学这样的理论方面。即使有足够的时间来全面的讲述生物化学的实践方面，学生或许会感到这课程枯燥无味。生物系学生通常也选学物理学方面的辅助课程，在这种课程中虽然讲到了一些分析方法的原理，但是，一般不涉及生物学的问题。

在我们自己的经验中，认为让学生通过查阅恰当的教科书来适当地补足实用生物化学原理是不可能的。有很多关于各种生物化学技术的教科书，但是这些书一般太详细，并且是供研究工作者和在生物化学方面为获得优等学位的学生所用的，因此，对于生物系学生仅有参考的价值。

我们对这问题的解决办法是，让学生得到有关实用生物

化学的原理和技术的详细要点,然后在讲课、个别辅导和有关的实践中去估价和发展这些概念。我们与其他理工学院、大学和学院的同事进行了很多讨论,证实了我们的观点,认为这是一种满意的途径,并且,认为有必要写成一本包括所有常用技术的书,专为生物系大学生所用。

这本为大学生的实用生物化学提供必要基础的书就是基于这些考虑而写的。它不打算成为一种广泛的研究手册,也不想用学生的特殊实验来说明每一种技术。大部分生物学和生物化学系都有为它们本专业的学生,根据其各自的基础和研究课题而很好地设计的实验教材。所有的实用生物化学工作当然有赖于很多如准确吸量等基本操作技巧。本书提供了这些技巧的基本认识,但主要还是要通过实践来获得。

我们采用如下途径:

(1) 重点放在实验课中预期学生可能会使用的分析技术上。

(2) 比较简单地涉及到如电子自旋共振和核磁共振波谱学、分析性超速离心和质谱那样一些技术。这些技术在大学生的实验室中不一定会用到,但是在他们的课堂讲课中可能会涉及到。

(3) 在介绍每一种技术时,用足够的理论基础来讲解它的原理。

(4) 讲解各种与技术有关的仪器时,对它们的工作原理、使用限度、错误的可能来源、准确度和优缺点都给予了充分的评价。

(5) 列出了基本的实验操作过程,以及与每一种技术有关的材料特性。

(6) 很简单地讨论了每一种技术相适应的一些用途。

书的内容很方便的分成三个部分。第一部分涉及到与所

有生物化学工作有关的一些基本概念。第一章讲到了 pH 的本质,在离体实验中对它的控制以及它对生物系统的影响,同时也讲到了可以进行生物化学研究的各种水平——从整体直到细胞匀浆技术。第二部分专门讲分离的方法,包括离心技术(第二章),层析和电泳技术(第三和第四章)。在这个部分中,重点放在“制备”和“分析”时所出现的不同问题上。在这部分的末尾我们企图指导学生在解决一个特殊的分离问题时,如何决定采用哪一种技术。最后一部分是分析技术,包括对生物系统的定性和定量研究中可用的一些主要方法。第五章是关于光谱技术,第六章是放射性同位素技术,第七章是电位测定、电势测定和极谱仪技术,第八章是测压技术。书中每一章的结尾列出了进一步阅读的教科书,学生通过这些教科书可能会找到某些感兴趣的方面。由 D. Glick 编著的“生物化学分析方法”丛书中,关于这一领域中最新进展的文章是十分有价值的。

本书所涉及到的很多原理是从物理化学的基本概念中引申出来的。因此,在现代生物学丛中我们推荐 Gareth Morris 教授的“生物学者的物理化学”一书作为一些原理的更详细的参考。

在整个课本中我们使用了 SI 单位,但是对实验的温度采用了摄氏单位。在书的开头有一个 c. g. s. 单位\*和 SI 单位的关系表。对于已有经历的读者,很多数值用 SI 单位来表示时会感到生疏,但是,相信我们迟早会象普通水平和优等水平的学生那样熟悉这些新的单位。

本书是为优等水平和普通国家证书水平生物学通过高等国家证书和高等国家文凭应用生物学和高等国家证书实验医

---

\* 即:厘米·克·秒制。——译者注

学的所有学生和教师，直至生物学、植物学、动物学、生物化学、生理学、药理学、药剂学、医学和兽医学的大学生而写的。

在这里向六位同事表示我们诚挚的感谢，他们为本书各章撰稿，并且和我们进行了很多卓有成效的讨论。我们力图消除所有的错误和避免过于简单化。但是，错误和缺点在所难免。对于能指出这些错误和缺点，以及能得到关于如何使本书更有助于学生的建议，我们将表示感谢。

最后，我们诚恳地希望阅读本书的学生至少在某些小的方面能有所收益。

哈特菲尔德理工学院

B. L. 威廉斯

K. 威尔逊

1974年



## 撰 稿 者

David H. Burrin 理学士, 哲学博士 科芬特里, 兰切斯特理工学院生化主讲师

Michael G. Davis 理学硕士, 哲学博士 哈特菲尔德, 哈特菲尔德理工学院生化讲师

Kenneth H. Goulding 理学硕士, 哲学博士 哈特菲尔德, 哈特菲尔德理工学院生化高级讲师

Alwyn Griffiths 理学士, 哲学博士 牛津, 牛津理工学院生化高级讲师

M. Rosalind Jenkins 理学硕士, 哲学博士 哈特菲尔德, 哈特菲尔德理工学院生化讲师

Ivor Simpkins 理学士, 哲学博士 哈特菲尔德, 哈特菲尔德理工学院生化高级讲师

Bryan L. Williams 理学硕士, 哲学博士 哈特菲尔德, 哈特菲尔德理工学院生化主讲师

Keith Wilson 理学士, 哲学博士 哈特菲尔德, 哈特菲尔德理工学院生化主讲师

## 缩 写

本书中不加说明而使用如下缩写

ADP	5'-二磷酸腺苷
ATP	5'-三磷酸腺苷
DDT	2,2-双(对-氯苯)-1,1,1-三氯乙烷
DNA	脱氧核糖核酸
EDTA	乙二胺四乙酸
mol.wt.	分子量
NAD <sup>+</sup>	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(氧化型)
NADH	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(还原型)
RNA	核糖核酸
s. t. p.	标准温度和压力
e. m. f.	电动势
e <sup>-</sup>	电子

### SI 单位(系统国际单位)

物理量	SI 单位名称	符号
基本单位		
长度	米	m
质量	公斤	Kg
时间	秒	S
电流	安培	A
热力学温度	开耳芬	K
物质质量	克分子	mol

## 衍生单位

能量	焦耳	J
力	牛顿	N
压力	帕斯卡	Pa
功率	瓦特	W
电荷	库仑	C
电位差	伏特	V
电阻	欧姆	$\Omega$
频率	赫兹	Hz
磁通量	台丝拉	T

## SI 单位的幂——字头

倍数	字头	符号
$10^6$	mega (兆)	M
$10^3$	Kilo (千)	K
10	deca (十)	da
$10^{-1}$	deci (分)	d
$10^{-2}$	Centi (厘)	c
$10^{-3}$	milli (毫)	m.
$10^{-6}$	micro (微)	$\mu$
$10^{-9}$	nano (纤)	n
$10^{-12}$	pico (沙)	P

## 体 积

体积的 SI 单位是立方米,  $m^3$ 。升已被重新定为准确地等于  $10^{-3}m^3$ 。虽然升的名称还经常被使用,但是,建议在准确的科学工作中不用升和它的分值(如毫升)。

$$1 \text{ 升 (l)} = 1\text{dm}^3 = 10^{-3}\text{m}^3$$

$$1 \text{ 毫升 (ml)} = 1 \text{ cm}^3 = 10^{-6} \text{ m}^3$$

$$1 \text{ 微升 } (\mu\text{l}) = 1 \text{ mm}^3 = 10^{-9} \text{ m}^3$$

### 普通单位与 SI 的转换表

单位	SI 当量
1 埃 (Å)	100pm = $10^{-10}$ m
1 大气压(标准)	101325Pa
(在 s. t. p 时 760mm 汞柱)	
1 卡路里	4.186J
1 度(°C)	(t°C + 273)K
1 居里 (Ci)	$3.7 \times 10^{10} \text{ s}^{-1}$
1 周/秒	1Hz
1 尔格	$10^{-7}$ J
1 高斯 (G)	$10^{-4}$ T
1 微米 ( $\mu$ )	1 $\mu$ m
1 毫米汞柱 (mmHg)	133.322Pa
1 克分子, M(1mol l <sup>-1</sup> )	1mol dm <sup>-3</sup>
1 磅压力/吋 <sup>2</sup> (1b fin <sup>-2</sup> )	6894.76Pa

### 一些用 SI 单位表示的物理常数

气体常数 (R)	8.314 JK <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup>
普朗克常数 (h)	$6.63 \times 10^{-34}$ Js
在 273K 和 101325Pa 时	
理想气体的克分子体积	22.41 dm <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup>

# 目 录

译者的话 .....	i
序言 .....	iii

## 第一部分 概论

<b>第一章 生物化学研究的一般原理</b> .....	<b>1</b>
1.1 引言 .....	1
1.2 pH 和缓冲液 .....	2
1.2.1 pH 对生物学过程的影响 .....	2
1.2.2 生物学研究中所用的缓冲液 .....	4
1.2.3 受 pH 影响的氨基酸和蛋白质的离子化 .....	6
1.3 生物化学研究的途径 .....	9
1.4 整体动物的研究 .....	12
1.5 等渗盐溶液 .....	16
1.6 分离器官的灌注法 .....	17
1.7 器官和组织切片技术 .....	18
1.8 植物材料的使用 .....	18
1.9 组织和细胞培养技术 .....	19
1.10 细胞分级分离实验指导 .....	21
1.10.1 组织和细胞匀浆的制备 .....	22
1.10.2 悬浮介质的选择 .....	23
1.10.3 裂解组织和细胞的方法 .....	24
参考读物 .....	27

## 第二部分 分离方法

<b>第二章 离心技术(由 A. Griffiths 编写)</b> .....	29
2.1 原理 .....	29
2.2 制备性离心 .....	32
2.2.1 差级离心 .....	32
2.2.2 分级区带离心 .....	35
2.2.3 等密度离心 .....	35
2.2.4 平衡等密度离心 .....	37
2.3 梯度的制备和取出 .....	37
2.3.1 梯度的性质 .....	37
2.3.2 不连续的或者分层的密度梯度技术 .....	38
2.3.3 连续的密度梯度技术 .....	38
2.3.4 从离心管中取出梯度溶液 .....	39
2.4 制备离心机及其应用 .....	39
2.5 转头的设计 .....	40
2.5.1 角式和水平式转头 .....	40
2.5.2 连续运转的转头 .....	41
2.5.3 Anderson 或区带转头 .....	41
2.6 亚细胞部分的分析 .....	44
2.7 差级离心分级分离结果的表示 .....	45
2.8 分析性超速离心 .....	47
2.9 分析性超速离心的应用 .....	50
2.9.1 分子量的测定 .....	50
2.9.2 大分子纯度的估价 .....	52
2.9.3 检测大分子中构象的变化 .....	53
参考读物 .....	53
<b>第三章 层析技术(由 B. L. Williams 编写)</b> .....	55
3.1 层析的一般原理 .....	55

3.2	吸附层析 .....	58
3.2.1	原理 .....	58
3.2.2	柱层析 .....	59
3.2.3	薄层层析 (t.l.c.) .....	60
3.3	分配层析 .....	64
3.3.1	纸层析 .....	64
3.3.2	分配柱层析 .....	67
3.4	逆流分溶 .....	67
3.4.1	原理 .....	67
3.4.2	装置 .....	70
3.4.3	应用 .....	71
3.5	气-液层析 (g. l. c.) .....	71
3.5.1	原理 .....	71
3.5.2	固体支持物 .....	73
3.5.3	固定相 .....	73
3.5.4	柱的性能 .....	74
3.5.5	检测系统 .....	75
3.5.6	保留值与定性分析 .....	76
3.5.7	加样 .....	76
3.5.8	定量分析 .....	77
3.5.9	样品的转化 .....	77
3.5.10	制备性气-液层析 .....	78
3.6	离子交换层析 .....	78
3.6.1	原理 .....	78
3.6.2	离子交换柱层析 .....	81
3.6.3	离子交换纸层析 .....	84
3.7	通透层析 .....	84
3.7.1	原理 .....	84
3.7.2	通透层析的材料 .....	85
3.7.3	凝胶过滤的理论 .....	88

3.7.4	凝胶过滤的实验技术 .....	89
3.7.5	薄层凝胶过滤 (t. l. g.) .....	91
3.7.6	通透层析的应用 .....	91
3.8	亲和层析 .....	92
3.8.1	原理 .....	92
3.8.2	不溶性基质的选择 .....	94
3.8.3	配位体的选择及其与基质的联接 .....	94
3.8.4	亲和柱的吸附和洗脱 .....	95
3.8.5	亲和层析的应用 .....	96
3.9	高压液体层析 .....	97
3.10	柱层析法的一般技术 .....	97
3.10.1	柱 .....	97
3.10.2	装柱 .....	98
3.10.3	加样 .....	99
3.10.4	洗脱 .....	99
3.10.5	梯度洗脱 .....	100
3.10.6	分部收集 .....	100
3.10.7	各部分的分析 .....	102
3.11	膜和空心纤维分离法 .....	102
3.11.1	原理 .....	102
3.11.2	膜分离 .....	103
3.11.3	空心纤维的分离 .....	104
	参考读物 .....	105
<b>第四章</b>	<b>电泳技术(由 M. G. Davis 和 I. Simpkins 编写)··</b>	<b>106</b>
4.1	前言 .....	106
4.2	影响迁移率的因素 .....	108
4.2.1	样品 .....	108
4.2.2	电场 .....	108
4.2.3	缓冲液 .....	109
4.2.4	支持介质 .....	111



4.3	一般技术 .....	112
4.3.1	装置 .....	112
4.3.2	支持介质的制备和特性 .....	113
4.3.3	操作过程 .....	117
4.4	特殊技术 .....	120
4.4.1	高压电泳 .....	120
4.4.2	幕式(连续)电泳 .....	122
4.4.3	不连续的(圆盘)电泳 .....	123
4.4.4	免疫电泳 .....	127
4.4.5	等电聚焦 .....	128
4.4.6	等速电泳 .....	129
4.5	电泳的应用 .....	130
	参考读物 .....	131
	<b>第二部分补遗</b> .....	132

### 第三部分 分析方法

<b>第五章</b>	<b>光谱技术(由 D. H. Burrin 编写)</b> .....	136
5.1	基本原理 .....	136
5.1.1	辐射,能量和原子结构 .....	136
5.1.2	光谱类型及其生化用途 .....	138
5.1.3	光吸收的基本定律 .....	140
5.2	可见光和紫外光分光光度法 .....	141
5.2.1	仪器装置 .....	142
5.2.2	应用 .....	147
5.3	荧光光谱测量法 .....	155
5.3.1	原理 .....	155
5.3.2	仪器装置 .....	155
5.3.3	荧光法与吸收分光光度法相比的优缺点 ...	157
5.3.4	应用 .....	157