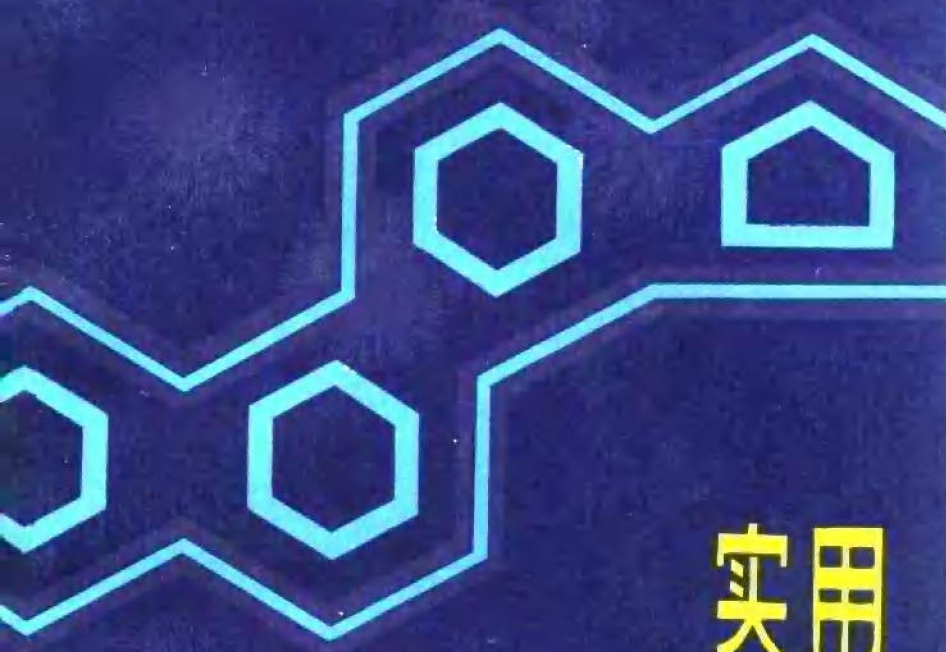


D. T. 普卢默 著

A stylized graphic of a chemical structure, possibly a polymer or a specific molecule, rendered in light blue outlines against a dark blue background. The structure consists of interconnected hexagonal and pentagonal rings, with some rings being solid and others being hollow.

实用 生物化学导论

科学出版社

实用生物化学导论

D. T. 普卢默 著

吴 肇 等 译

科 学 出 版 社

1 9 8 5

内 容 简 介

本书是英国大学生物化学专业理学士和有关专业理科硕士的实验技术教科书。叙述深入浅出,内容比较丰富,涉及蛋白质、核酸、脂质和糖类等各个领域,包括目前生物化学研究中使用的大部分常规方法和技术。本书可供大专院校有关专业的师生以及生物化学、分子生物学和医学等有关专业的研究工作者参考。

David T Plummer
An introduction to
PRACTICAL BIOCHEMISTRY
McGraw-Hill, 1978

实用生物化学导论

D. T. 普卢默 著

吴 翠 等 译

责任编辑 吴铁双

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

*

1985 年 1 月 第 一 版 开本: 787×1092 1/32
1985 年 1 月 第 一 次 印 刷 印 张: 12
印 数: 0001—8,000 字 数: 264,000

统一书号: 13031·2769

本社书号: 3838·13—10

定 价: 2.80 元

译 者 的 话

本书是英国伦敦大学 D. T. 普卢默所著《实用生物化学导论》的第二版,在英国作为大学生物化学专业学生及攻读学位的研究生的专门课本。

本书不是纯理论的生物化学课本,也不是单纯的生物化学实验教程,而是一本既有一定的理论,又能指导学生生物化学实验技术的、结构较为严密的现代生物化学专业书籍。修订后的第二版包括综合性的基本实验和指导实验的理论根据,有些内容是普通的生物化学课本中缺乏的。

本书安排的许多实验具有一定的代表性,涉及到了生物化学的各个基本领域,其中有经典实验,也有较新的方法和技术。这些内容也适合于我国培养生物化学专业人员和有关专业人员使用。这就是我们翻译本书的目的。

本书的不足之处是,有些生物化学的重要技术没有包括进去,如蛋白质及核酸的序列分析,同位素技术等。为此,建议使用本书的同志,根据自己实验的需要,参考其它有关书籍。

本书的个别段落内容上有错误,译者已分别作了订正,但限于水平,译文的错误及不足之处在所难免,敬请读者批评指正。

译 者

1982年4月

再 版 前 言

《实用生物化学导论》初版于 1971 年底,如今已是该重新修订的时候了。直接增加新的资料及实验,将会使本书篇幅扩大,用途少而昂贵。但是为了满足本学科各种教学计划的实验要求,一部综合性的实用教科书还是很需要的。在增加新的材料的同时,应从原书中删去哪些内容,成了难处理的问题。作者通过取消那些需要特殊设备的、过时的或多余的实验来解决这个问题。因此,新版本是现代化的,大部分内容是重写过的,但仍包含有一系列综合性的基本实验。所以它很适合于特殊仪器少的大班教授实用生物化学的基本概念之用。有些实验虽适于小组的形式,但仍可在大班应用,只要同时进行几个实验,而各小组的学生按周轮转即可。

新版本每章都有一段有关的生物化学概述。另外,每个实验都带有一节关于该实验的生物化学原理。然而,这本书不仅仅是实验室的“烹调书”,而是要能对生物化学的实用方面提供有用的理论根据。从而对学生所用的标准课本有所补充。

本书的实验可作为英国生物化学理学士(British BSc)的头二年、其它学科选修生物化学的理科硕士(MSc)以及为攻读 HNC, HND, 及 M. I. Biol. 学生的技术训练课程。本书对以生物化学方法为辅助手段的大学生及技术员也应该是有用的。对于在其它领域工作的研究人员,需要进入实用生物化学这个不熟悉的领域时,本书亦可当作一本有用的参考书。

D. T. 普卢默

技术上的注意事项

溶 液

实验所用的溶液及其所需数量于每项实验中列出。和标题“材料”同一行印出的数字 10 或 100, 是按 10 个或 100 个学生, 每两人为一组进行实验所估算的用量。因此, 一个班级的需要量多少, 可依此数据很容易算出。需要量得出后, 还要估计到假定每个测定要作二次的用量。此外, 要在原来的最低限度的用量上有额外的增加, 而且要把这个溶液配成接近需要量的最方便的体积。例如, 一项实验所需的溶液是 300 毫升, 那么本书给出的体积是 500 毫升, 但如果需要量是 400 毫升, 建议的体积则是一升。

“材料”栏中注明 100 的实验, 可安排 100 个学生的班级进行实验, 但注明 10 的, 有可能是受难得的仪器或昂贵的试剂的限制, 只能安排 10 套实验。

最后, 上述试剂的量系按在班内平均分配而有小量剩余估算的, 如果把试剂放在实验台上, 由学生自己取用, 则配制量还要大一些。

实验室的安全

本书指出了每一特定实验中可能出现的危险, 但下列一般性的注意事项也是值得注意的。做实验时要穿工作服, 最好带上安全眼镜。

毒物

对毒物一定要小心，在有毒溶液的瓶子上总要注明“危险”字样。建议把在接触某一材料时可能会发生的任何危险，以及该物进入体内的途径(即口,肺及皮肤等),清楚地写在教室前面的黑板上。

实验室内自然严禁饮酒和进食。毒物千万不能用嘴来吸取,而要用一个安全球或滴定管,最好是在学院的某个中心点或技术监督下取用毒物。在接触腐蚀性的物质如强酸、强碱或高活性化合物,如氧化剂或还原剂时,也应使用安全吸管。

火

处理有机溶剂时,很容易着火,对此要非常警惕。可燃溶剂不能在明火上蒸发,在处理乙醚之类的溶剂时,千万不能在邻近的实验台上使用煤气灯。电器打火的危险也很大,因此,含有乙醚之类物质的溶液切不可离心或存放在冰箱里,使用过的废有机溶剂应由技术人员收集在已准备好的特殊容器内,切不可倾入水槽中。

生物的危险

接触生物材料的危险性或许不如上述情况那样明显,但班级主管教员应负责向学生指出实验中的任何特殊的危险性。皇家学院(伦敦大学)出版的关于生物的危险性的一本小册子,讲得很全面,特向读者推荐。

所有的微生物都应认为是危险的,而血清型肝炎(澳大利亚抗原)的生物危险性可能是最大的。它主要是通过血液传染,其它体液也能传播其病毒,感染血清型肝炎病毒者,死亡率可能高达30%。对此病目前尚无有效的治疗方法。此

外,健康人也能携带此种病毒,所以,所有接触过人血或尿的仪器,用完后都应立刻消毒。带菌者的比例可能低到 0.1% 或高达 20%。因此,在使用人的体液时,必须格外小心,严加注意。

吴肇 译 王申五 校

目 录

译者的话	xiii
再版前言	xiv
技术上的注意事项	xv
第一章 实验的准确性问题	1
单位和数量	1
基本单位	1
衍生单位	1
前缀	1
与 SI 联合使用的单位	3
克分子浓度, 克分子(量)及浓度	4
测量的准确性	6
误差的来源	6
正态分布曲线	9
生物学变异	11
容量玻璃仪器	12
实验记录	16
实验结果的记录	17
表和图	18
文献目录	21
第二章 pH 和缓冲溶液	22
酸和碱	22
定义	22
酸和碱的强度	23
氢离子浓度和 pH	23
pH 的定义	23

水的解离	24
pH 的准确测量	25
pH 指示剂	27
酸和碱的解离	28
强酸	28
弱酸	28
缓冲溶液	32
原理	32
生物学用的缓冲溶液	34
pH 和生命	36
动物	36
植物	37
细菌	37
实习	38
pH 计的使用和注意事项	38
滴定曲线	40
实验 2.1 用指示剂测定 pH	40
实验 2.2 强酸与弱酸混合物的滴定	41
实验 2.3 用强碱滴定强酸	42
实验 2.4 用强碱滴定弱酸	43
实验 2.5 pKa 值的测定	43
实验 2.6 二羧酸的 pKa 值	44
实验 2.7 柠檬酸-柠檬酸钾缓冲液	45
文献目录	45
第三章 分离方法	46
引论	46
透析	47
半透膜	48
溶剂	49
物理条件	49

Donnan 平衡	49
实验 3.1 透析袋的通透性	50
实验 3.2 Donnan 平衡的验证	51
凝胶过滤	52
原理	54
凝胶过滤的材料	55
实验 3.3 用 Sephadex G-25 分离血红蛋白和 2,4-二硝 基苯天冬氨酸	57
实验 3.4 蛋白质溶液的脱盐	58
薄层凝胶过滤	59
实验 3.5 Sephadex G200 薄层凝胶过滤法测定糜蛋白 酶的分子量	60
层析	61
柱层析的实践	61
吸附层析	65
实验 3.6 碳酸钙柱分离青草色素	67
实验 3.7 吸附层析法分离菠菜叶子里的色素	68
离子交换层析	69
实验 3.8 用阳离子交换树脂交换氯化钠	74
实验 3.9 离子交换层析分离氨基酸	74
分配层析	76
实验 3.10 纸层析鉴定牛奶中的糖类	81
实验 3.11 氨基酸的双向纸层析分离	82
薄层层析	84
实验 3.12 果汁中糖类的薄层层析鉴定	85
实验 3.13 脂类的薄层层析分离	86
电泳	87
原理	87
实践	88
实验 3.14 氨基酸的纸电泳分离	91

实验 3.15 醋酸纤维素薄膜电泳分离血清蛋白质	93
实验 3.16 聚丙烯酰胺凝胶电泳	95
文献目录	99
第四章 比色法和分光光度法	100
比色法	100
比尔-朗伯定律	101
消光的测量	103
分光光度法	106
吸收光谱分析	106
吸收光谱	107
实验 4.1 两种染料的吸光率曲线	109
实验 4.2 比尔定律的验证	110
实验 4.3 无机磷的比色测定	110
实验 4.4 比色法测定肌酸酐验证比尔定律	112
实验 4.5 对-硝基酚的吸收光谱	112
实验 4.6 对-硝基酚 pK_a 值的测定	113
实验 4.7 对-硝基酚磷酸酯酶酶促反应曲线	114
实验 4.8 紫外光分光光度法测定巴比土酸盐	114
实验 4.9 血红蛋白的光谱曲线	117
文献目录	119
第五章 氨基酸和蛋白质	120
化学和物理性质	120
氨基酸的化学性质	120
蛋白质的氨基酸组成	123
蛋白质结构	126
蛋白质的分离	129
在生物体内的功能	132
氨基酸	134
肽	134
蛋白质	136

定性试验.....	137
氨基酸的一般性质	137
实验 5.1 氨基酸的溶解度.....	137
实验 5.2 茚三酮反应.....	137
实验 5.3 蛋白黄色反应.....	138
实验 5.4 米隆 (Millon) 氏反应	139
实验 5.5 色氨酸的二羟醋酸反应.....	139
实验 5.6 波利 (Pauly) 试验	140
实验 5.7 埃尔利希 (Ehrlich) 试剂	141
实验 5.8 硝普盐试验.....	141
实验 5.9 坂口 (Sakaguchi) 反应.....	142
蛋白质的一般反应	143
实验 5.10 肽键的双缩脲反应	143
实验 5.11 热和酸碱的变性作用	144
实验 5.12 重金属沉淀蛋白质作用	144
实验 5.13 酸试剂沉淀蛋白质作用	145
测定方法.....	145
实验 5.14 用茚三酮反应定量测定氨基酸	145
实验 5.15 双缩脲法	146
实验 5.16 Folin-Lowry 法测定蛋白质浓度.....	147
实验 5.17 蛋白质和氨基酸的紫外吸收	148
实验 5.18 各种蛋白质测定方法的比较	149
实验 5.19 氨基酸的滴定曲线	149
实验 5.20 丙氨酸的甲醛滴定	150
蛋白质的分离.....	151
实验 5.21 蛋白质在蒸馏水和盐溶液里的溶解度	151
实验 5.22 从牛奶里分离酪蛋白	153
实验 5.23 细胞色素 c 的制备和性质	153
蛋白质结构.....	156
实验 5.24 蛋白质 C 末端氨基酸的鉴定	156

实验 5.25 某些蛋白质的游离氨基端的测定	157
实验 5.26 粘度法检测牛血清清蛋白的构象变化	159
实验 5.27 pH 对牛血清清蛋白构型的影响	161
文献目录	161
第六章 糖类	163
糖类在生物界中的功能	163
能量的来源	163
细胞和分子的结构成分	164
糖的结构	164
引言	164
立体化学	164
糖苷链	168
简单的单糖衍生物	169
生物化学上重要的糖类	170
简单的糖类	170
大分子	170
化学性质	174
糖的一般性试验	174
实验 6.1 Molisch 试验	174
实验 6.2 蒽酮反应	175
糖的还原反应	175
实验 6.3 Benedict 试验	176
实验 6.4 Barfocd 试验	176
实验 6.5 成脎反应	177
个别糖的测定	179
实验 6.6 戊糖的 Bial 试验	179
实验 6.7 酮糖的 Seliwanoff 试验	180
实验 6.8 蔗糖的测定	180
实验 6.9 碘试验	181
实验 6.10 多糖的水解	181

未知糖类样品的鉴定方案	182
旋光性	182
实验 6.11 葡萄糖的变旋作用	183
糖的定量测定	184
实验 6.12 蒽酮法测定糖	184
实验 6.13 Somogyi-Nelson 法测定还原型糖	185
实验 6.14 用葡萄糖氧化酶 (β -D-葡萄糖; 氧的氧化还原酶, 1.1.3.4) 测定葡萄糖	187
多糖的实验	188
实验 6.15 糖原和其他多糖的酸水解	188
实验 6.16 α -, β -淀粉酶水解糖原	189
实验 6.17 糖原的酸水解和酶促水解产物的层析鉴定	191
实验 6.18 用肌肉磷酸化酶分解糖原和产生葡萄糖-1-磷酸	191
文献目录	193
第七章 脂类和膜	195
脂类的分类及其生物学作用	195
简单脂	195
复合脂	197
衍生脂类	200
膜	202
膜磷脂	202
膜上胆固醇和其它脂类	204
蛋白质和膜	204
脂类定性实验	205
实验 7.1 脂类的溶解度	205
实验 7.2 脂肪酸试验	206
实验 7.3 甘油试验	207
实验 7.4 不饱和试验	208
脂类定量分析	208

实验 7.5 测定脂肪的酸值·····	209
实验 7.6 脂肪的皂化值·····	209
实验 7.7 脂肪的碘值·····	211
胆固醇的性质·····	212
实验 7.8 从脑中提取胆固醇·····	212
实验 7.9 血液中胆固醇的测定·····	213
脂溶性维生素·····	214
实验 7.10 紫外线对维生素 A 的影响·····	215
实验 7.11 紫外线照射维生素 D 前体制备维生素 D·····	216
膜·····	219
实验 7.12 脂质组成对单分子脂层通透性的影响·····	219
实验 7.13 去污剂和其它膜活性试剂对红细胞膜的影 响·····	219
文献目录·····	221
第八章 核酸 ·····	222
核酸的化学组成·····	222
嘌呤·····	223
嘧啶·····	223
戊糖·····	224
核苷·····	224
核苷酸·····	225
核酸·····	226
核酸的生物学作用·····	228
DNA·····	228
RNA·····	229
核酸的实验·····	233
实验 8.1 酵母 RNA 的分离·····	233
实验 8.2 核糖核苷酸的电泳·····	234
实验 8.3 离子交换层析法分离核糖核苷酸·····	235
实验 8.4 RNA 的碱基组成·····	237

实验 8.5	猪脾 DNA 的分离	238
实验 8.6	核酸的紫外吸收作用	240
实验 8.7	二苯胺反应测定 DNA	243
实验 8.8	地衣酚反应测 RNA	244
实验 8.9	核酸的磷含量测定	244
文献目录		245
第九章 酶		246
引言		246
酶作为催化剂		246
实验 9.1	酶的催化作用	247
酶活性测定		249
实验 9.2	血清碱性磷酸酶水解对位硝基苯磷酸酯的 反应曲线(正磷酸单酯磷酸水解酶 3.1.3.1) …	250
酶浓度		252
实验 9.3	血清碱性磷酸酶活性随酶浓度的变化	252
酶活性和底物浓度		253
Michaelis Menten 酶		253
实验 9.4	胰蛋白酶消化酪蛋白的 Michaelis 常数	257
变构酶		259
实验 9.5	酵母异柠檬酸脱氢酶: 一种变构酶	262
辅酶和激活剂		264
辅酶		265
激活剂		265
实验 9.6	乳酸脱氢酶 (L-乳酸: NAD 氧化还原酶 1.1.1.27) 辅酶烟酰胺腺嘌呤二核苷酸	265
实验 9.7	镁离子激活小牛肠碱性磷酸酶	266
酶的抑制		267
抑制作用的类型		267
实验 9.8	抑制剂对公牛心脏乳酸脱氢酶的影响	270
温度和 pH		273