

Cell Biology Protocols

细胞生物学实验方案

[德] J. R. 哈里斯 (J. Robin Harris)

[英] J. 格雷厄姆 (John Graham) 编

[英] D. 赖克伍德 (David Rickwood)

吕社民 李冬民 孟列素 等译



化学工业出版社
生物·医药出版分社



第2版



Cell Biology

Practicals

细胞生物学实验方案

主编：L. 德维尔 (L. Deville)

副主编：M. 德维尔 (M. Deville)

译者：M. 德维尔 (M. Deville)

科学出版社 生命科学分社

科学出版社

Cell Biology

Protocols

细胞生物学实验方案



化学工业出版社
生物·医药出版分社

· 北京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

细胞生物学实验方案/[德] 哈里斯 (Harris, J. R.),
[英] 格雷厄姆 (Graham, J.), [英] 赖克伍德 (Rickwood, D.) 编; 吕社民等译. —北京: 化学工业出版社,
2009. 9

书名原文: Cell Biology Protocols

生物实验室系列

ISBN 978-7-122-06167-6

I. 细… II. ①哈…②格…③赖…④吕… III. 细胞
生物学-实验 IV. Q2-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 112636 号

Cell Biology Protocols, by J. Robin Harris, John Graham and David Rickwood.

ISBN-13: 978-0-470-84758-9

ISBN-10: 0-470-84758-1

Copyright© 2006 by John Wiley & Sons Ltd. All rights reserved.

Authorized translation from the English language edition published by John Wiley & Sons Ltd.

本书中文简体字版由 John Wiley & Sons Ltd. 授权化学工业出版社独家出版发行。

未经许可, 不得以任何方式复制或抄袭本书的任何部分, 违者必究。

北京市版权局著作权合同登记号: 01-2008-1687

责任编辑: 傅四周 孟 嘉

装帧设计: 关 飞

责任校对: 蒋 宇

出版发行: 化学工业出版社 生物·医药出版分社

(北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 北京云浩印刷有限责任公司

装 订: 三河市宇新装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张 16 3/4 字数 421 千字 2009 年 9 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 78.00 元

版权所有 违者必究

撰稿者名单

Judie B. Alimonti

Special Pathogens Program, National
Microbiology Laboratory, H2380, 1015
Arlington Ave. Winnipeg, Manitoba,
Canada, R3E 3R2

Geneviève Almouzni

Institut Curie, CNRS, UMR 218, Section
Recherche, 26 rue Ulm, F-75248 Paris 05,
France

Alicia Alonso

Universidad del Pais Vasco, EHU,
CSIC, Unidad Biofis, Aptdo 644,
E-48080, Spain

Susan L. Bane

Department of Chemistry, SUNY,
Binghamton, NY 13902-6016, USA

Julie Benesova

Lehrstuhl für Biochemie der Pflanzen,
Ruhr-Universität Bochum, D-447780
Bochum, Germany

Eric Bertrand

Novartis Pharma AG, CH-4002,
Switzerland

Stephanie Boggasch

Institut für Allgemeine Botanik des
Johannes-Gutenberg-Universität,
Müllerweg 6, D-55099 Mainz, Germany

Igor Bronstein

BBSRC Institute for Animal Health, High
Street, Crompton RG20 7NN, UK

William J. Brown

Biochemistry, Molecular and Cell
Biology Sections, Cornell University,
Ithaca, NY 14853, USA

Koert N.J. Burger

Department of Biochemical Physiology,
Institute of Biomembranes, Room W210,
Padualaan 8, 3584 CH Utrecht, The
Netherlands

K. Chambers

Biochemistry, Molecular and Cell
Biology Sections, Cornell University,
Ithaca, NY 14853, USA

C. Yan Cheng

Population Council, Center of Biomedical
Research, 1230 York Avenue, New York
NY 10021, USA

Richard Chi

Department of Biological Science, Florida
State University, Tallahassee, FL
32306-4370, USA

Anton I.P.M. de Kroon

Department Biochemistry of Membranes,
Centre for Biomembranes and Lipid
Enzymology, Institute of Biomembranes,
Padualaan 8, 3584 CH Utrecht, The
Netherlands

Ben de Kruijff

Department Biochemistry of Membranes,
Centre for Biomembranes and Lipid
Enzymology, Institute of Biomembranes,
Padualaan 8, 3584 CH Utrecht, The
Netherlands

Daniela S. Dimitrova

Center for Single Molecule Biophysics
and Department of Microbiology, 304
Sherman Hall, SUNY at Buffalo, Buffalo,
NY 14214, USA

A. Doody

Biochemistry, Molecular and Cell
Biology Sections, Cornell University,
Ithaca, NY 14853, USA

H. Dariush Fahimi

Institute of Anatomy and Cell Biology,
University of Heidelberg, INF 307,
Neuenheimer Feld 307, D-69120
Heidelberg, Germany

Paul G. Fitzgerald

Department of Cell Biology and Human Anatomy, School of Medicine, 1 Shields Avenue, Davis, CA 95616-8643, USA

Roland Foisner

Department of Molecular Cell Biology, Institute of Medical Biochemistry, Vienna Biocenter, University of Vienna, Dr. Bohr Gasse 9/3, A-1030 Vienna, Austria

Barbara Gajkowska

The Laboratory of Cell Ultrastructure, Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland

Ya-sheng Gao

Department of Pathology, Duke University Medical Center, Box No. 3020, Rm 225, Jones Bldg, Durham, NC 27, USA

Robert Gniadecki

University of Copenhagen, Bispebjerg Hospital, Department of Dermatology D92, Bispebjerg Bakke 23, DK-2400 Copenhagen NV, Denmark

Félix M. Goñi

Universidad del País Vasco, EHU, CSIC, Unidad Biofis, Aptdo 644, E-48080, Spain

John Graham

JG Research Consultancy, 34 Meadway, Upton Wirral CH49 6IQ, UK

Arnold H. Greenberg[†]

University of Manitoba, Department of Medical Microbiology, 539-730 William Avenue, Winnipeg, MB, R3E 0V9, Canada

J. Robin Harris

Institute of Zoology, University of Mainz, D-55099 Mainz, Germany

John F. Hess

Department of Cell Biology and Human Anatomy, School of Medicine, 1 Shields Avenue, Davis, CA 95616-8643, USA

Martin Hetzer

Molecular and Cell Biology Laboratory, The Salk Institute for Biological Studies, 10010 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037, USA

Matthew K. Higgins

MRC Laboratory of Molecular Biology, Hills Road, Cambridge CB2 2QH, UK

Shin-ichi Hisanaga

Department of Biology, Tokyo Metropolitan University, Graduate School of Science, Hachioji, Tokyo 1920397, Japan

David F. Holmes

Wellcome Trust Centre for Cell Matrix Research, School of Biological Sciences, University of Manchester, Stopford Building, Oxford Road, Manchester M13 9PT, UK

Karl E. Kadler

Wellcome Trust Centre for Cell Matrix Research, School of Biological Sciences, University of Manchester, Stopford Building, Oxford Road, Manchester M13 9PT, UK

Thomas C.S. Keller

Department of Biological Sciences, Florida State University, Tallahassee, FL 32306-4370, USA

Helmut Kirchhoff

Institut für Botanik, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Schlossplatz 2, D-48149 Münster, Germany

Doris Kirschner

Institut Carie, 26 rue d'Ulm, 75248 Paris Cedex 05, France

Barbara Korbei

Department of Molecular Cell Biology, Institute of Medical Biochemistry, Vienna Biocenter, University of Vienna, Dr. Bohr Gasse 9/3, A-1030 Vienna, Austria

Marina Kriaevska

University of Leicester, Clinical Sciences Unit, Leicester General Hospital, Gwendolen Road, Leicester LE5 4PW, UK

Sven-T. Liffers

Lehrstuhl für Biochemie der Pflanzen, Ruhr-Universität Bochum, D-447780 Bochum, Germany

[†]deceased

Yuechueng Liu

Department of Pathology, University of
Oklahoma Health Services Center,
Oklahoma City, OK 73104, USA

Eugene Lukanidin

Danish Center Society, Institute of Cancer
Biology, Department of Molecular Cancer
Biology, Strandblvd 49, 4-3, DK-2100
Copenhagen, Denmark

Ian G. Mills

Dept. of Neurobiology, MRC Laboratory
of Molecular Biology, Hills Road,
Cambridge CB2 2QH, UK

Nathaniel G.N. Milton

Department of Molecular Pathology &
Clinical Biochemistry, Royal Free
Hospital Campus, Rowland Hill Street,
London NW3 2PF, UK

Dolores D. Mruk

Population Council, Center of Biomedical
Research, 1230 York Avenue, New York,
NY10021, USA

Luis Eduardo Soares Netto

Departamento de Biologia, Instituto de
Biociências, Universidade de São Paulo,
Rua do Matão, 277; Sala 327, Cidade
Universitária, CEP 05508-900, São
Paulo-SP, Brazil

Jeffrey A. Nickerson

Department of Cell Biology, School of
Medicine, University of Massachusetts,
55 Lake Avenue N., Worcester, MA
01655, USA

Minnie O'Farrell

Department of Biological Sciences,
University of Essex, Wivenhoe Park,
Colchester CO4 3SQ, UK

Jacques Paiement

Département de Pathologie et Biologie
Cellulaire, Université de Montréal N-813,
Pavilion Principal, 2900
Edouard-Montpetit, Montréal, Québec
H3T 1J4, Canada

Harald Paulsen

Institut für Allgemeine Botanik der
Johannes-Gutenberg-Universität,
Müllerweg 6, D-55099 Mainz, Germany

Brian J. Peter

McMahon Laboratory, Neurobiology
Division, MRC-LMB, Hills Road,
Cambridge CB2 2QH, UK

Reiner Peters

Institut für Medizinische Physik und
Biophysik, Universität Münster,
Robert-Koch-Straße 31, D-48149
Münster, Germany

Anuradha Pradhan

Department of Pathology, University of
Oklahoma Health Services Center,
Oklahoma City, OK 73104, USA

David Rickwood

Department of Biological Sciences,
University of Essex, Colchester, UK

Matthias Rögner

Lehrstuhl für Biochemie der Pflanzen,
Ruhr-Universität Bochum, D-447780
Bochum, Germany

T. Sasaki

Department of Biology, Tokyo
Metropolitan University, Graduate School
of Science, Hachioji, Tokyo 1920364,
Japan

Rutger W.H.M. Staffhorst

Department Biochemistry of Membranes,
Centre for Biomembranes and Lipid
Enzymology, Institute of Biomembranes,
Padualaan 8, 3584 CH Utrecht, The
Netherlands

Elizabeth Sztul

Department of Cell Biology, University
of Alabama, McCullum Bldg, Rm 668,
1530 S. 3rd Avenue, Birmingham, AL
35294, USA

Jun Tan

The Roskamp Institute, University of
South Florida, 3515 E. Fletcher Avenue,
Tampa, FL 33613, USA

Meinolf Thiemann

Graffinity Pharmaceuticals AG, Im
Neuenheimer Feld 518-519, D-69120
Heidelberg, Germany

Terrence Town

Yale University School of Medicine and
Howard Hughes Medical Institute, 310
Cedar St., PO Box 208011, New Haven,
CT 06520-8011, USA

Kenji Uéda

Department of Biology, Tokyo
Metropolitan University, Graduate School
of Science, Hachioji, Tokyo 1920364,
Japan

Jean Underwood

Department of Cell Biology, University of
Massachusetts Medical School, 55 Lake
Avenue, Worcester, MA 01655, USA

Ana-Victoria Villar

Universidad del País Vasco, EHU, CSIC,
Unidad Biofis, Aptdo 644, E-48080, Spain

John C. Voss

Department of Biological Chemistry,
School of Medicine, 1 Shields Avenue,
Davis, CA 95616-8643, USA

Stefan Wagner

Department of Cell Biology, University of
Massachusetts Medical School, 55 Lake
Avenue, Worcester, MA 01655, USA

Ivan Walev

Institute for Medical Microbiology and
Hygiene, University of Mainz, Hochhaus
Augustusplatz, D-55131 Mainz, Germany

Tobias C. Walther

EMBL, Gene Expression Programme,
Meyerhofstrasse 1, 69117 Heidelberg,
Germany

Anne Wilson

Woodbine Terrace, Stanton, Ashbourne
Derbyshire DE6 2DA

F.-Xabier Contreras

Universidad del País Vasco, EHU, CSIC,
Unidad Biofis, Aptdo 644,
E-48080, Spain

Jinnan Xiao

Department of Pathology, University of
Oklahoma Health Services Center,
Oklahoma City, OK 73104, USA

Chunhong Yang

Institut für Allgemeine Botanik der
Johannes-Gutenberg-Universität,
Müllerweg 6, D-55099 Mainz, Germany

Robin Young

Département de Pathologie et Biologie
Cellulaire, Université de Montréal N-813,
Pavilion Principal, 2900
Edouard-Montpetit, Montréal, Québec
H3T 1J4, Canada

译者名单

(按姓氏笔画排序)

王璇	田李芳	田娟	冯燕	吕社民
朱文华	任吴超	任娟	刘越	孙青竹
李冬民	李红波	何晓静	杨旭东	周艳
郑芳	孟列素	侯卫坤	钟楠楠	高玉
蒋小刚	蒋丛姗	雷莉		

出版者的话

21 世纪是生命科学的世纪，这已成为人们的共识。

生命科学随着人类对自身和自然的认识、探索而萌芽，随着人类生产和科学实践的进步而发展。现代生命科学包括生物学、医学、农学等传统学科领域，以及生物学、生物技术与环境科学乃至社会科学等其他学科相互渗透、交叉而产生的新型学科体系。20 世纪后叶现代生物科学尤其是分子生物学取得了一系列突破性成就，使得生命科学在自然科学体系中的位置发生了革命性的变化，成为 21 世纪的带头学科。人们对生命科学也寄予了无限的期望，希望能够解决人类社会所面临的人口膨胀、资源匮乏、疾病危害、环境污染和生态破坏等一系列重大问题。

回顾生命科学的发展历程，实验技术一直起着非常重要的促进作用。如 17 世纪 Leeuwenhoek 等人发明并应用显微镜技术，直接催生了“细胞学说”的建立和发展；1973 年 Cohn 和 Boyer 完成了 DNA 体外重组实验，标志着基因工程的肇始；1988 年 Kary Mullis 发明的 PCR 技术甚至使生命科学产生了飞跃性的发展。可以说，生命科学无时无刻离不开实验，实验是开启神奇的生命王国大门的钥匙。没有实验技术的不断进步，也就没有生命科学今天的巨大发展；同时，生命科学的发展又对实验技术提出了更高的要求，进一步刺激了后者的不断进步。生命科学正是在“实验催生和验证着基础理论，理论指导和促进了实验技术”的不断循环中从必然王国走向自由王国。

工欲善其事，必先利其器。为了有助于生命科学工作者更多地了解相关实验技术和仪器设备，更好地设计实验方案，更有效地开展实验过程，更合理地处理实验结果，化学工业出版社组织出版了“生物实验室系列”图书。系列图书在整体规划的基础上，本着“经典、前沿、实用，理论与技术并重”的原则组织编写，分批出版。

在题材上，系列图书涵盖综合实验技术和单项实验技术两个方面。其中综合实验技术既有以实验目的为题，如“蛋白质化学分析技术”，内容纵向覆盖多项实验技术；也有以某一生命学科领域的综合实验技术为题，如“发酵工程实验技术”、“生物化学实验技术”等。而单项实验技术则以深入介绍某一专项技术及其应用为主，在阐述其基本原理的基础上，横向介绍该项技术在多个领域的应用，如“双向电泳技术”、“流式细胞术”等。

在内容上，系列图书主要有以下两个显著特点。一是强调先进性——除了系统介绍常用和经典实验技术以外，特别突出了当前该领域实验手段的新理论、新技术、新发展，为国内专业人员起到借鉴和引导作用。二是强调可操作性——对于每一项实验技术，系统介绍其原理方法、设备仪器和实验过程，让读者明了实验的目的、方案设计以及具体步骤和结果处理，以期起到实验指南的作用。

本系列图书坚持质量为先，开拓国内和国际两个出版资源。一方面，约请国内相关领域兼具理论造诣和丰富实验室工作经验的专家学者编著；另一方面，时刻关注国际生命科学前沿领域和先进技术的进展，及时引进（翻译或影印）国外知名出版社的权威力作。

“生物实验室系列”图书的读者对象设定为国内从事生命科学及生物技术和相关领域

(如医学、药学、农学)的专业研究人员,企业或公司的生产、研发、管理技术人员,以及高校相关专业的教师、研究生等。

我们殷切希望“生物实验室系列”图书的出版能够服务于我国生命科学的发展需要,同时热忱欢迎从事和关心生命科学的广大科技人员不仅对已出版图书提供宝贵意见和建议,也能对系列图书的后续题目设计贡献良策或推荐作者,以便我们能够集思广益,将这一系列图书沿着可持续发展的方向不断丰富品种,推陈出新。

谨向所有关心和热爱生命科学,为生命科学的发展孜孜以求的科学工作者致以崇高的敬意!

祝愿我国的科技事业如生命之树根深叶茂,欣欣向荣!

化学工业出版社
生物·医药出版分社

前言

细胞生物学成为迅猛发展的学科得益于持续的技术进步。我们试图编纂一部令人兴奋、又有广泛用途的细胞生物学技术书籍，使其包括屡试不爽的实验方法又有新近建立的技术方案。因此，本书包含了现代细胞生物学各方面实用的常规和时新实验方案。本书首先介绍了基本光学显微镜技术，继之介绍用于投射显微镜研究的不同细胞、亚细胞和生物大分子标本制备的基本技术。后续一章涉及到细胞培养和细胞分离技术。这些技术广泛地用于为细胞研究提供初始的实验材料。此后两章是本书的主要内容，介绍了不少用于研究亚细胞的细胞器和分离细胞膜组分的技术。再下一章中，包括了 44 个用于体外研究的特殊技术和细胞生物学的综合技术，每项技术均由该领域的知名专家提供。最后在参考数据一章中提供有关化学品安全、离心和放射性同位素方面的有用信息。本书具有很强的实用性，对不同层次的从事细胞生物学的研究者均具有指导意义。

J. Robin Harris
John Graham
David Rickwood

译者说明

本书根据 J. Robin Harris、John Graham、David Rickwood 编写的“Cell Biology Protocols”英文书译出。全书分七章（见目录）。

本书系统而详尽地叙述了细胞生物学研究领域的重要技术手段和相关技术的实用操作过程，它所介绍的内容详尽而涉猎广泛，是一本内容丰富、简明扼要的细胞生物学实验手册。它填补了我国该领域的参考书籍的稀缺，故将此书译成中文，供从事细胞生物学及其他生物医学相关专业的科研人员阅读参考。

书中的人名、化学试剂名（包括全称、缩写及商品名）和参考文献保留英文形式，书中涉及到的仪器或技术名称尽可能采用约定俗成的译法，有多个译法的选其较为常用的一种，没有惯例的则由译者按简单明了的原则自译。

由于原著由众多作者集体编写，文中在写作风格和同一试剂或技术的描述上存在较大差异。为了便于读者阅读，对单位进行了统一，我们尽量使用国际单位，对试剂的浓度采用体积分数和质量体积浓度两种写法，分别为“%（体积分数）”和“g/L”。原著中可能存在的较明显的错误之处，我们在忠实按照原著进行翻译的同时，标以“译者注”以及我们的观点，希望对读者有参考价值。

由于译者水平所限，书中难免存在缺点或错误，衷心欢迎读者批评指正。

2009 年 9 月于西安交通大学医学院

目 录

1 光学显微镜基础	1
1.1 简介	1
1.2 复式显微镜的关键部件	2
1.2.1 镜体和镜灯	2
1.2.2 聚光镜	3
1.2.3 载物台和聚焦机制	3
1.2.4 物镜	3
1.2.5 目镜	4
1.3 显微镜使用技术	4
1.3.1 明视野显微镜术	4
实验方案 1.1 明视野显微镜的调节	4
实验方案 1.2 调定柯勒照明	5
1.3.2 油镜的使用	5
实验方案 1.3 调焦步骤	5
1.3.3 相差显微镜术	6
实验方案 1.4 相差显微镜的调节	6
1.3.4 微分干涉对比显微镜术	7
1.3.5 暗视野显微镜术	7
1.3.6 荧光显微镜术	7
实验方案 1.5 调定落射荧光显微镜	8
1.3.7 共聚焦显微镜术	8
1.3.8 常见问题及显微镜保养和维修	9
1.4 样本的准备和染色	10
1.4.1 附着	10
实验方案 1.6 多聚 L-赖氨酸包被	10
1.4.2 固定	10
1.4.3 准备组织切片	11
1.4.4 染色	11
参考文献	11
2 电子显微镜基础	12
2.1 简介	12
2.2 可用的电子显微镜方法	12
2.2.1 负染色法	12
2.2.2 玻璃化技术	13
2.2.3 金属投影和冰冻断裂技术	13
2.2.4 免疫标记	13
2.2.5 专门技术	13
2.2.6 设备与试剂的危险性	14
实验方案 2.1 聚乙烯醇缩甲醛-碳、连续碳和多孔碳支持膜的制备	14
实验方案 2.2 “微滴”负染色步骤（使用连续碳、聚乙烯醇缩甲醛-碳及多孔碳支持膜）	15

实验方案 2.3	免疫负染法	16
实验方案 2.4	负染色-碳膜技术; 细胞及细胞器的分裂	17
实验方案 2.5	未染色及负染色的玻璃化样本制备	18
实验方案 2.6	生物样品的金属投影技术	19
实验方案 2.7	组织加工及树脂包埋的常规实验方案	20
实验方案 2.8	对细胞及细胞器悬液的琼脂糖胶囊化	21
实验方案 2.9	电镜超薄切片的常规染色	22
实验方案 2.10	包埋后薄切片的间接免疫标记	23
实验方案 2.11	使用免包埋电子显微镜技术显示核基质和细胞骨架	24
致谢		28
参考文献		29
3	细胞培养	30
3.1	细胞: 分离和分析	30
3.2	机械法分离组织	31
实验方案 3.1	机械剪切作用使组织解聚	31
实验方案 3.2	使用温热的胰蛋白酶使组织解聚	32
实验方案 3.3	冷胰蛋白酶消化	34
实验方案 3.4	应用胶原酶或中性蛋白酶解聚	35
3.3	从体液中分离细胞	36
实验方案 3.5	从渗出液中回收细胞	36
3.4	去除红细胞	37
实验方案 3.6	急速裂解法去除红细胞	37
实验方案 3.7	等密度离心法去除红细胞和死细胞	38
3.5	细胞计数和细胞活力	38
实验方案 3.8	细胞计数和活力测定	39
3.6	细胞培养的用途	41
实验方案 3.9	从单层培养物回收细胞	41
3.7	冷藏	42
实验方案 3.10	冻存细胞	43
实验方案 3.11	解冻细胞	44
3.8	外周血单核细胞的分离	45
3.8.1	应用密度阻滞	45
3.8.2	应用混合技术	45
3.8.3	应用阻滞漂浮技术	46
实验方案 3.12	密度阻滞法纯化人外周血单核细胞	47
实验方案 3.13	混合剂技术纯化人外周血单核细胞	47
实验方案 3.14	阻滞浮选技术纯化人外周血单核细胞	48
参考文献		49
4	细胞器的分离与功能分析	51
4.1	简介	51
4.2	匀浆化	51
4.3	差速离心	52
4.3.1	器材	53
4.4	密度梯度离心	53
4.5	细胞核及核组分	54

4.5.1 细胞核	54
4.5.2 核组分	54
4.6 线粒体	55
4.6.1 酶标记物	55
4.7 溶酶体	55
4.7.1 酶标记物	55
4.8 过氧化物酶体	56
4.8.1 酶标记物	56
4.9 粗面与光面内质网	56
4.9.1 酶和化学标记物	56
4.10 高尔基膜	57
4.10.1 酶标记物	57
4.11 质膜	57
4.11.1 用酶标记物分析质膜	57
4.12 叶绿体	58
4.12.1 叶绿体功能分析	58
实验方案 4.1 用碘克沙醇梯度溶液从哺乳动物肝脏中分离细胞核（并注意培养细胞）	58
实验方案 4.2 中期染色体的分离	59
实验方案 4.3 核膜的分离	60
实验方案 4.4 核孔复合物的分离	61
实验方案 4.5 核基质的制备	62
实验方案 4.6 核仁的制备	63
实验方案 4.7 用差速离心法从大鼠肝脏中分离重线粒体组分	64
实验方案 4.8 从组织和培养细胞中制备轻线粒体组分	65
实验方案 4.9 用 Nycodenz® 不连续梯度溶液纯化酵母线粒体	66
实验方案 4.10 用中等载量 Nycodenz® 不连续梯度溶液从哺乳动物肝脏或培养细胞中纯化线粒体	67
实验方案 4.11 琥珀酸-碘代硝基四唑盐紫还原酶检测	68
实验方案 4.12 不连续 Nycodenz® 梯度溶液中溶酶体的分离	68
实验方案 4.13 β -半乳糖苷酶（分光光度测定）	69
实验方案 4.14 β -半乳糖苷酶（荧光测定）	70
实验方案 4.15 碘克沙醇梯度提取哺乳动物的过氧化物酶体	70
实验方案 4.16 过氧化氢酶检测	71
实验方案 4.17 碘克沙醇梯度溶液分析主要细胞器	72
实验方案 4.18 蔗糖梯度溶液分离光面及粗面内质网	74
实验方案 4.19 以自生成碘克沙醇梯度溶液分离光面与粗面内质网	75
实验方案 4.20 NADPH-细胞色素 c 还原酶检测	76
实验方案 4.21 葡萄糖-6-磷酸酶检测	77
实验方案 4.22 RNA 分析	78
实验方案 4.23 从肝脏分离高尔基膜	78
实验方案 4.24 UDP-半乳糖半乳糖基转移酶的检测	79
实验方案 4.25 人血影细胞的纯化	80
实验方案 4.26 大鼠肝脏中细胞膜的分离	81
实验方案 4.27 5'-核苷酸酶测定	82
实验方案 4.28 碱性磷酸二酯酶测定	82
实验方案 4.29 哇巴因敏感的 Na^+/K^+ -ATP 酶测定	83
实验方案 4.30 绿叶或豌豆幼苗中叶绿体的分离	84

实验方案 4.31 叶绿体中叶绿素含量的测定	85
实验方案 4.32 叶绿体完整性的测定	85
参考文献	86
5 在跨膜运输和细胞信号转导研究中使用的亚细胞膜的分级分离方法	89
5.1 简介	89
5.2 可采用的研究方法	89
5.3 质膜区域	90
5.4 参与内质网-高尔基体-质膜路径的膜区室的分析	90
5.4.1 蔗糖-D ₂ O 梯度	90
5.4.2 浮力密度碘克沙醇梯度 (预形成)	91
5.4.3 沉降速度碘克沙醇梯度 (预形成)	91
5.4.4 用 SDS-PAGE 和蛋白印迹进行分析	91
5.5 从胞浆蛋白中分离膜囊泡	92
5.6 内吞作用	92
5.6.1 配体标记	92
5.6.2 组织系统	92
5.6.3 细胞系统	92
5.6.4 分析	93
实验方案 5.1 利用蔗糖梯度从哺乳动物肝脏分离基底外侧和胆汁小管的质膜区域	93
实验方案 5.2 用抗体结合珠分离大鼠肝脏窦状区域	94
实验方案 5.3 用蔗糖梯度溶液从 Caco-2 分离顶端和基底外侧区域	94
实验方案 5.4 碘克沙醇梯度离心法从 MDCK 细胞中分离顶端和基底外侧区域	95
实验方案 5.5 脂筏的分离	97
实验方案 5.6 细胞膜小凹的分离	99
实验方案 5.7 利用不连续蔗糖-D ₂ O 密度梯度分析细胞的高尔基体和内质网亚结构	100
实验方案 5.8 利用连续碘克沙醇密度梯度法分析细胞的高尔基体、内质网、内质网-高尔基体 中间复合物和其他膜结构	101
实验方案 5.9 利用连续或非连续沉淀速率碘克沙醇密度梯度分析细胞的高尔基体、内质网、 反式高尔基网络和其他膜结构	103
实验方案 5.10 细胞膜蛋白的 SDS-PAGE	105
实验方案 5.11 半干印迹	106
实验方案 5.12 用增强化学发光法检测印迹蛋白	106
实验方案 5.13 从哺乳动物细胞和细菌中分离胞膜以及胞质组分	107
实验方案 5.14 分析在碘克沙醇组分中的早期和再循环的内吞体、转染的 MDCK 细胞中对转铁 蛋白的内吞作用	109
实验方案 5.15 利用自生成的碘克沙醇梯度分析笼形蛋白包被囊泡的加工、大鼠肝脏无唾液酸糖 蛋白的内吞作用	111
实验方案 5.16 多聚蔗糖-Nycodenz® 梯度用于分析哺乳动物肝脏中致密内体-溶酶体活动	112
参考文献	113
6 体外实验技术	117
6.1 简介	117
实验方案 6.1 使用人类无细胞系统的偶联 DNA 修复合成的核小体装配	117
实验方案 6.2~实验方案 6.4——简介	121
实验方案 6.2 用卤代脱氧胸腺嘧啶核苷类似物单标新生 DNA	121
实验方案 6.3 用不同卤代脱氧胸腺嘧啶核苷类似物双标 DNA	123