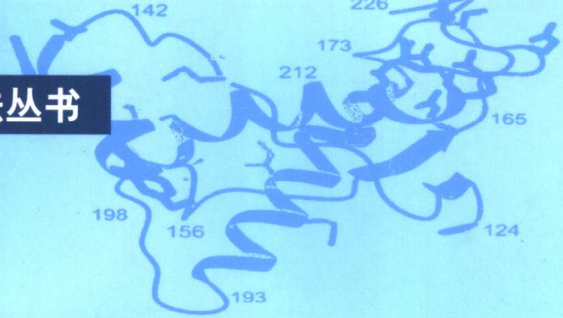
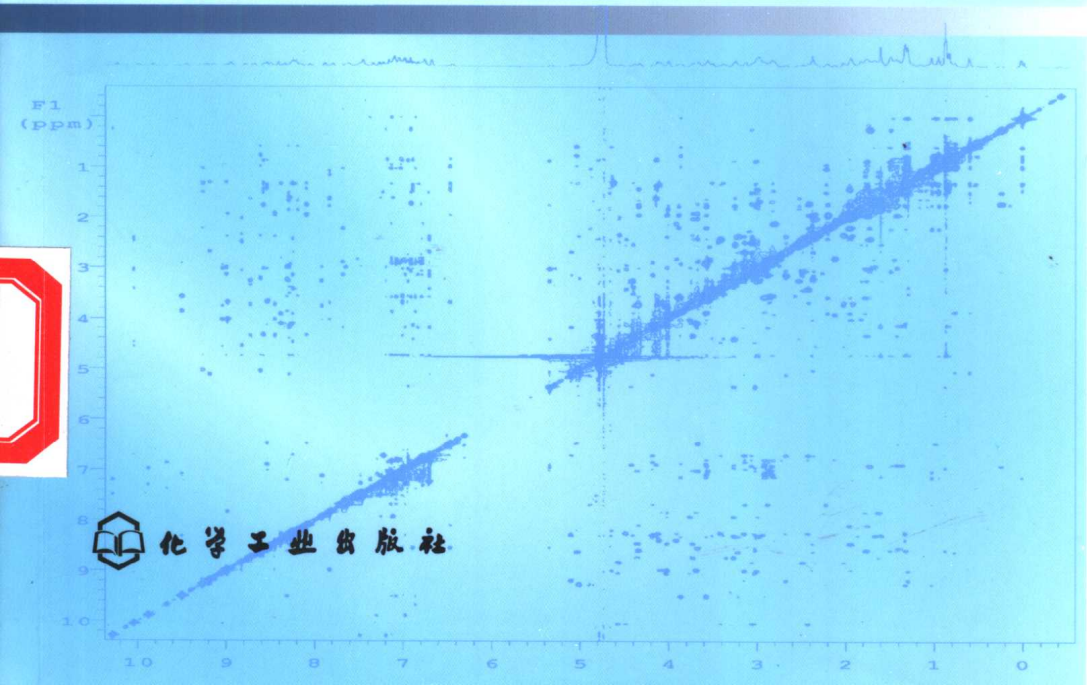
分析科学现代方法丛书




# 现代仪器分析在生物医学研究中的应用

钱小红　谢剑炜　主编




化学工业出版社

分析科学现代方法丛书

# 现代仪器分析在生物医学研究中的应用

钱小红　谢剑炜　主编

化学工业出版社
·北　京·

（京）新登字 039 号

**图书在版编目(CIP)数据**

现代仪器分析在生物医学研究中的应用/钱小红，谢剑炜主编. —北京：化学工业出版社，2003.7
（分析科学现代方法丛书）
ISBN 7-5025-4674-X

Ⅰ. 现… Ⅱ. ①钱…②谢… Ⅲ. 仪器分析-应用-生物医学工程 Ⅳ. R318

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2003）第 059380 号

分析科学现代方法丛书
**现代仪器分析在生物医学研究中的应用**
钱小红 谢剑炜 主编
责任编辑：任惠敏
文字编辑：何 芳
责任校对：陈 静
封面设计：于 兵
*
化学工业出版社出版发行
（北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029）
发行电话：(010)64982530
http://www.cip.com.cn
*
新华书店北京发行所经销
北京市彩桥印刷厂印刷
三河市前程装订厂装订
开本 850 毫米×1168 毫米 1/32 印张 14¼ 字数 376 千字
2003 年 9 月第 1 版 2003 年 9 月北京第 1 次印刷
ISBN 7-5025-4674-X/TQ·1776
定 价：35.00 元

**版权所有 违者必究**
该书如有缺页、倒页、脱页者，本社发行部负责退换

# 《分析科学现代方法丛书》编辑委员会


顾　问　汪尔康　周同惠

主　编　费　伦

副主编　潘雌民　胡继明　王敬尊

编　委　(以姓氏笔画为序)

马礼敦　王敬尊　毛希安

朱　静　刘忠敏　汪正范

张玉奎　林少凡　胡继明

费　伦　袁　谷　钱小红

黄惠忠　董绍俊　潘雌民

# 序

与读者见面的这一作品是《分析科学现代方法丛书》中的一本，这套丛书将介绍这个领域的各个侧面，希望大家喜爱它。

在刚刚过去的100年中，世界经历了人类历史上空前剧烈和深刻的变化，展望未来，仍将处于飞速的变化中；这种变化在很大程度上是科学技术进步所推动的。比如，计算机技术的广泛应用和通讯的快速发展，正使经济、政治和文化真正具有全球性。社会生产与财富积累方式发生根本性的变化，地域人均GNP与财富分布的分散性迅速扩大；同时，人造物品的广泛应用，改变甚而破坏了自我生存环境。要理解和预测未来所展示的可能性，就需要系统地研究这些关键性变化，以及正在使生活改变面貌的各种趋势。变化的基础是知识——知识的发现、它的迅速传播以及利用这种知识所需要的教育。获得并运用知识是经济进步的钥匙。分析科学现代方法正是人类知识宝库中最重要、最活跃的领域之一，它不仅是研究的对象，同时又是观察和探索世界，特别是微观世界的手段，各行各业都离不开它。以1996年底的我国国家标准为例，其中分析方法国家标准占国家标准总数1.7万多个的16.5%左右。可以毫不夸张地说，没有分析科学、分析方法和分析仪器就没有现代工业，没有现代科学技术。

随着社会的变化发展，分析科学现代方法的应用，不断向纵深拓展延伸，同时，又经常面临新需求的挑战，要求改进和发展新分析方法、新分析技术和新概念，提高其灵敏度、准确度和可靠性，从中提取更多的信息，提高测试质量、效率和经济性。特别是材料科学、环境科学和生命科学等的发展，要求从分子、原子和电子等的角度了解物质的结构、组成和功能间的关系，其范围包括从无机到有机、从常量到微量、从成分到结构、从宏观到微观、从静态到

动态等测量和表征物质的属性。发现需求并理解其普遍意义，就成为关键性的环节。需求是其发展的基本推动力，推动其广泛地从科学知识和科学方法中、前沿科研最新成果中及实践经验中，吸取营养，引发启迪，研究运用，寻找解答的途径，达到更高层面的概括，扩大并加深其无止境的疆界。

在建设有中国特色的社会主义社会的实践中，各行各业建立了许多分析测试中心和分析实验室；广大分析测试工作者活跃在国民经济和国防建设的各条战线上，做出了自己的努力、自己的贡献，发表了大量学术论文，积累了丰富的实践经验。在这样的背景下，有必要总结和推广经验，交流成果，不断提高分析测试队伍的业务水平，开阔视野，以适应分析科学与技术的飞速发展和国家需要。为此，在原教委所属高校分析测试中心会议前期准备的基础上，于1996年，中国分析测试协会决定主办并编辑出版这套《分析科学现代方法丛书》，调整了编委会和出版计划，并确定突出实用性、综合性及新颖性作为该丛书编辑的主导思想，以反映国内分析科学的新水平。我们欢迎有兴趣的专家学者，从自己实践的侧面或自己概括的角度，积极参加丛书的撰写工作，丰富其内容，扩延其疆界。

丛书的编辑出版工作得到各界人士、专家学者及中国分析测试协会领导的热情关注和支持，在此谨致衷心感谢，同时亦真诚地欢迎读者的关注和批评指正。

潘尉民

# 序

近代医药学和生命科学的重大进展，绝大部分都起始于分析技术的创新。分析技术经过实践应用和改进发展成分析仪器，而仪器分析又充实并加速了学科的发展。所以仪器分析技术是从事生物医学开拓创新、深入研究、规范操作以及取得新突破的关键环节。

本书汇集了仪器分析中最具有实用性及生命力的各项仪器分析技术。共分为十三章，由富有实践经验并从事仪器分析的一线专家，分工执笔，从仪器分析的基本原理、应用实践、结果解释和发展前景等方面详尽地撰写了各项仪器分析技术的精粹。是一本既有基本理论又富有启发性的著作。

本书除了供从事医药学和生物医学工作者参考之外，已经作为培训该领域研究生及进修人员的教材，历时近 20 年。在此期间逐年吸收新进展并增添新篇章，使其实用性及新颖性均达到了当前的新水平。

谨此推荐。



2003.7

# 前　言

仪器分析是分析化学的重要组成部分。生命科学的发展总是与分析技术的进步相关联，X 射线晶体衍射对 DNA 双螺旋结构的阐述奠定了现代分子生物学的基础，使人类对微观领域的认识迈出了决定性的一步。以阵列毛细管电泳和激光荧光技术为基础的大规模、自动化基因测序技术的问世，使 20 世纪生命科学领域最宏大的研究项目——人类基因组计划得以提前完成。诞生于 20 世纪 80 年代的生物质谱技术，为当今功能基因组——蛋白质组的研究奠定了基础。随着科学技术的不断进步，各种高灵敏度、高选择性、自动化的分析仪器以及相关的新技术、新方法将不断涌现，必将极大地加速生命科学基础研究和应用研究的发展。

本书在编写中，注重对相关仪器分析基本原理深入浅出的介绍，突出现代分析仪器及相关技术的最新进展，强调在生物医学研究中的应用与举例。目的是希望从事药学与基础医学研究的研究生及相关科研人员通过本书的学习，了解现代仪器分析的基本原理和应用，特别是仪器分析技术在生命科学研究中的关键作用、所产生的重要突破以及对未来生命科学研究可能带来的影响，为其它相关学科的学习和今后的科学研究奠定基础。

本书在编写过程中得到我国老一辈分析化学家马立人研究员的亲自指导并为本书作序。本书作者由在仪器分析及生物医学应用研究领域有较丰富经验的研究人员组成，他们是：刘小达、钱小红（第一章）、董方霆（第二章）、顾明松（第三章）、刘荫堂（第四章）、宋占军（第五章）、谢剑炜（第六章）、杨松成（第七章）、王京兰、蔡耘（第八章）、魏开华（第九章）、颜贤忠、杜泽涵（第十章）、许丹科（第十一章）、李元光（第十二章）、陈苏红、王升启（第十三章）、杜宗敏、杨瑞馥（第十四章）。本书还得到军事医学

科学院研究生处出版基金的资助。在此一并表示衷心的感谢。

作　者

2003 年 7 月于北京

# 内 容 提 要

本书收集国内外新技术、新方法，深入浅出地介绍了液相色谱、有机质谱、生物传感器技术等的原理。简要介绍各种技术相关的分析仪器，着重向读者提供了各种技术在生物医学领域的应用，并附以实例。

本书为广大从事药学与基础医学相关研究的研究生和科研人员提供了现代仪器分析技术的重要知识，为其今后的学习及研究奠定基础。

# 目　录

**第一章　电泳法及其发展** …… 1
第一节　电泳法发展简史 …… 1
第二节　电泳的基本原理和主要影响因素 …… 3
一、电泳迁移率 …… 3
二、电渗 …… 4
三、离子强度 $\mu$ …… 4
四、产热和散热 …… 4
第三节　电泳方法的发展 …… 5
一、分辨率的提高 …… 5
二、分离量的增多 …… 15
三、自动化程度的提高 …… 15
四、电泳与其它方法联用 …… 16
五、介电电泳与应用 …… 18
第四节　核酸电泳与大规模基因测序 …… 19
第五节　双向电泳与蛋白质组研究 …… 22
一、等电聚焦电泳 …… 23
二、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 …… 25
三、蛋白检测 …… 28
四、图像分析与数据库构建 …… 29
五、存在问题 …… 31
结语 …… 31
参考文献 …… 32
**第二章　高效液相色谱法** …… 33
第一节　发展概况 …… 33
第二节　基本概念 …… 34
第三节　液相色谱仪的主要系统 …… 36
第四节　液相色谱的主要分离模式 …… 38

第五节　高效液相色谱在生物医学研究中的应用 …… 41
一、正确选择分离方法 …… 41
二、样品性质考察 …… 42
三、选择适当的分析方法 …… 42
四、生物样品研究应用 …… 44
（一）氨基酸分析 …… 44
（二）蛋白质序列分析 …… 49
（三）蛋白质纯度分析和肽指纹图谱分析 …… 49
（四）核苷和核苷酸 …… 53
（五）手性药物的分离 …… 54
（六）中药指纹图谱的研究 …… 56
参考文献 …… 59
**第三章　气相色谱及其联用技术** …… 61
第一节　概述 …… 61
一、色谱法的由来及原理 …… 61
二、色谱的分类 …… 61
三、色谱的特点 …… 63
第二节　基本概念 …… 63
一、原理 …… 63
二、气相色谱的发展概述 …… 64
三、气相色谱仪的组成及功能 …… 65
（一）气源系统 …… 65
（二）进样系统 …… 66
（三）分离系统 …… 67
（四）检测系统 …… 70
（五）数据采集与处理系统 …… 75
四、现代气相色谱仪的特点 …… 75
五、扩展气相色谱分析范围的常用方法 …… 76
1. 裂解法 …… 76
2. 衍生化法 …… 76
第三节　气相色谱联用技术 …… 77
一、气相色谱-质谱联用（GC-MS） …… 77
（一）质谱法原理 …… 77

（二）质谱仪组成 …… 78
（三）气-质联用仪的特点 …… 79
二、气相色谱-红外光谱联用 …… 80
（一）红外光谱原理 …… 80
（二）气-红联用仪特点 …… 80
三、气相色谱-原子（等离子体）发射光谱联用（GC-AES） …… 80
（一）原子（等离子体）发射光谱法原理 …… 80
（二）原子（等离子体）发射光谱法的特点 …… 81
（三）气相色谱-原子发射光谱联用的特点 …… 81
第四节 气相色谱及其联用的定性、定量方法 …… 82
一、定性方法 …… 82
二、定量方法 …… 83
第五节 气相色谱样品预处理方法 …… 83
第六节 气相色谱在生物医学中的应用 …… 85
一、在新药研究中的应用 …… 85
二、毒物检测 …… 86
三、临床分析 …… 86
四、毒品或违禁药物检测 …… 86
五、气相色谱及其联用在生物医学中的应用实例 …… 86
参考文献 …… 90
**第四章 高效薄层色谱法** …… 91
第一节 概述 …… 91
第二节 薄层板的选择 …… 94
一、薄层板的组成 …… 94
二、薄层板的种类 …… 96
三、薄层板的活化 …… 97
第三节 点样 …… 98
一、点样一般要求 …… 98
二、点样装置 …… 99
第四节 展开方式和技术 …… 99
一、展开形式 …… 99
二、展开方式 …… 101
三、几种特殊展开技术 …… 101

四、展开装置 …… 104
第五节 展开剂的选择 …… 105
一、对展开剂的基本要求 …… 105
二、展开剂选择的一般方法 …… 106
三、不同类型薄层色谱常用的展开剂 …… 108
第六节 斑点定位法 …… 111
一、物理检出法 …… 112
二、化学显色检出法 …… 112
三、其它检出法 …… 114
第七节 定性定量分析 …… 115
一、定性分析 …… 115
二、定量分析 …… 119
第八节 高效薄层色谱法在生物医学中的应用 …… 123
一、在药物、生药分析中的应用 …… 123
二、在临床、生化分析中的应用 …… 129
三、在食品、卫生分析中的应用 …… 129
四、在其它领域分析中的应用 …… 133
参考文献 …… 133
**第五章 红外和拉曼光谱技术** …… 134
第一节 概述 …… 134
一、红外光谱 …… 134
二、拉曼光谱 …… 135
三、红外光谱、拉曼光谱技术的主要应用范围 …… 135
第二节 傅里叶变换红外光谱仪的基本原理及结构 …… 136
一、迈克尔逊干涉仪 …… 136
二、干涉图的产生 …… 137
三、干涉图的傅里叶变换 …… 138
四、光谱的获得 …… 139
五、傅里叶变换红外光谱仪中的光源、检测器、分束器 …… 142
第三节 傅里叶变换红外光谱的样品制备与数据处理 …… 142
一、红外光谱样品制备技术 …… 142
二、红外光谱数据处理技术 …… 144
第四节 傅里叶变换红外光谱的基本技术 …… 146

一、远红外光谱技术 …… 146
二、近红外光谱（NIR）技术 …… 147
三、衰减全反射光谱技术 …… 147
四、红外光谱联用技术 …… 147
五、傅里叶变换红外光谱的其它技术 …… 148
第五节 傅里叶变换红外光谱在生物医学中的应用 …… 148
一、蛋白质的二级结构研究 …… 149
二、核酸的红外光谱 …… 155
三、碳水化合物的红外光谱 …… 155
四、细菌、细胞及肌体组织的傅里叶变换红外光谱研究 …… 155
第六节 红外显微镜技术的应用 …… 157
一、红外显微镜的结构及性能特点 …… 157
二、红外显微镜在聚合物研究中的应用 …… 158
三、红外显微镜在肿瘤诊断上的应用 …… 158
第七节 红外光谱和拉曼光谱在有机小分子药物中的应用 …… 160
一、定性分析 …… 160
二、红外光谱解析 …… 161
三、定量分析 …… 161
四、应用实例 …… 162
（一）王浆酸的红外光谱定性定量分析 …… 162
（二）烷氧基奎宁环烷盐酸盐的两个外消旋体红外光谱分析 …… 162
（三）应用红外光谱、拉曼光谱等光谱分析技术研究碘与 $\beta$-环糊精结合物的结构特征 …… 163
第八节 红外光谱和拉曼光谱在中草药研究中的应用 …… 166
参考文献 …… 168
**第六章 紫外和可见吸收光谱法与荧光光谱法** …… 169
第一节 紫外、可见吸收光谱法 …… 169
一、分子对辐射的吸收——电子光谱 …… 169
二、化合物电子光谱的产生 …… 172
（一）跃迁类型 …… 173
（二）常用术语 …… 173
（三）有机化合物的紫外、可见光谱 …… 174
（四）溶剂效应和空间效应 …… 177

三、朗伯-比尔定律 …… 178
四、紫外和可见分光光度法的应用 …… 180
（一）化学计量比的确定 …… 180
（二）酸碱平衡的测定 …… 182
（三）反应速率的测定 …… 183
（四）精制和痕量分析 …… 183
五、紫外及可见分光光度计 …… 184
（一）主要组成部件 …… 184
（二）分光光度计的类型 …… 185
第二节 荧光光谱及其在生物医学中的应用 …… 185
一、原理 …… 185
（一）荧光和磷光的产生 …… 186
（二）荧光和分子结构的关系 …… 189
（三）荧光分析的特点及常用的方法 …… 191
（四）荧光的影响因素 …… 193
二、荧光参数 …… 195
（一）激发光谱 …… 195
（二）发射光谱 …… 195
（三）斯托克斯位移 …… 195
（四）荧光强度 …… 196
（五）峰位和谱带宽度 …… 197
（六）量子产率 …… 197
（七）荧光偏振与去偏振 …… 198
（八）荧光寿命 …… 199
三、荧光分析仪器 …… 200
四、荧光分析法在生物医学中的应用 …… 202
（一）荧光分析法测定细胞内钙离子浓度 …… 202
（二）荧光偏振在生化方面的应用 …… 202
（三）利用荧光探针研究酶的变构效应 …… 204
（四）利用荧光探针研究细胞色素 P450 结构特征及其抑制剂的筛选 …… 204
（五）分子信标技术在基因诊断方面的应用 …… 206
（六）Förster 能量转移及其在蛋白质动力学上的应用 …… 206

参考文献 …… 208
**第七章 现代有机质谱** …… 209
第一节 概述 …… 209
第二节 有机质谱仪 …… 210
一、离子源 …… 210
（一）气相离子源 …… 211
（二）解吸附离子源 …… 213
二、质量分析器 …… 217
三、有机质谱仪的主要技术指标 …… 221
第三节 有机质谱联用技术 …… 222
一、气相色谱-质谱联用 …… 222
二、液相色谱-质谱联用 …… 223
三、毛细管电泳-质谱联用 …… 224
四、串联质谱 …… 225
第四节 有机质谱的主要应用 …… 226
参考文献 …… 228
**第八章 生物质谱及其应用** …… 229
第一节 生物质谱技术简介 …… 229
一、电喷雾电离质谱 …… 229
二、基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 …… 232
三、串联质谱 …… 233
第二节 生物质谱技术的应用 …… 236
一、在蛋白质鉴定中的应用 …… 236
（一）肽质量指纹谱鉴定技术 …… 236
（二）肽阶梯测序法鉴定技术 …… 239
（三）肽序列标签鉴定技术 …… 240
（四）从头测序 …… 242
二、蛋白质翻译后修饰的鉴定 …… 243
（一）质谱在蛋白质翻译后修饰鉴定中的应用 …… 244
（二）磷酸化蛋白质的鉴定 …… 246
（三）糖基化蛋白质的鉴定 …… 247
三、生物大分子非共价相互作用的分析 …… 248
（一）蛋白质与小分子配体相互作用 …… 248