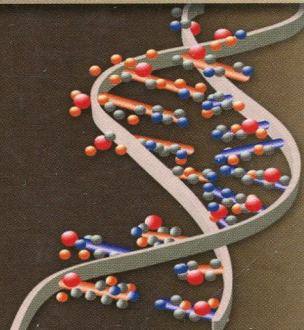


МЕТОДЫ В БИОЛОГИИ



# ПРИНЦИПЫ И МЕТОДЫ БИОХИМИИ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

Редакторы  
К. Уилсон и Дж. Уолкер



ИЗДАТЕЛЬСТВО

**БИНОМ**

# **ПРИНЦИПЫ И МЕТОДЫ БИОХИМИИ, И МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ**

Редакторы К. Уилсон и Дж. Уолкер

2-е издание

Перевод с английского  
канд. хим. наук Т. П. Мосоловой  
и канд. биол. наук Е. Ю. Бозелек-Решетняк

под редакцией  
профессора, доктора хим. наук А. В. Левашова  
и профессора, доктора хим. наук В. И. Тишкова



Москва  
БИНОМ. Лаборатория знаний

УДК 577(035.3)  
ББК 28.070/28.072я73  
П76

*Серия основана в 2010 г.*

**П76** **Принципы** и методы биохимии и молекулярной биологии / ред. К. Уилсон и Дж. Уолкер ; пер. с англ. — 2-е изд. — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. — 848 с. : ил., [4] с. цв. вкл. — (Методы в биологии).

ISBN 978-5-9963-1895-7

В учебном издании, написанном авторами из Великобритании, изложены основы теоретических концепций биохимии и молекулярной биологии в приложении к современным методам исследований, среди которых культивирование клеток, микроскопия, центрифугирование, иммунохимический анализ, методы биоинформатики и геной инженерии, методы выделения и очистки белков, хроматография, масс-спектрометрия, электрофорез, оптические методы и радиоизотопный анализ. Во 2-м издании перевод был существенно доработан.

Для студентов вузов, преподавателей и аспирантов медико-биологического профиля, а также специалистов биохимиков, молекулярных биологов, химиков, биофизиков, фармакологов и медиков, работающих в области фундаментальных исследований.

УДК 577(035.3)  
ББК 28.070/28.072я73

---

*Учебное издание*

Серия: «Методы в биологии»

## **ПРИНЦИПЫ И МЕТОДЫ БИОХИМИИ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ**

*Редакторы К. Уилсон и Дж. Уолкер*

Ведущий редактор канд. хим. наук *Т. И. Почкаева*

Художник *Н. А. Новак*

Технический редактор *Е. В. Денюкова*. Корректор *Д. И. Мурадян*

Компьютерная верстка: *Т. Э. Внукова*

Подписано в печать 02.12.14. Формат 70×100/16.

Усл. печ. л. 68,9. Тираж 1000 экз. Заказ 6826

Издательство «БИНОМ. Лаборатория знаний»

125167, Москва, проезд Аэропорта, д. 3

Телефон: (499) 157-5272, e-mail: binom@Lbz.ru, http://www.Lbz.ru

Отпечатано способом ролевой струйной печати

в ОАО «Первая Образцовая типография» Филиал «Чеховский Печатный Двор»

142300, Московская область, г. Чехов, ул. Полиграфистов, д. 1

Сайт: www.chpd.ru, E-mail: sales@chpd.ru, т/ф. 8(496)726-54-10

---

Originally published in the English language by Cambridge University Press under the title "Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology", Sixth edition.

© Copyright Cambridge University Press, 2005

© Перевод на русский язык, оформление.

БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015

ISBN 978-5-9963-1895-7

# Оглавление

|   |     |
|---|-----|
| <i>Предисловие редакторов перевода</i> .....                      | 5   |
| <i>Предисловие редакторов шестого издания</i> .....               | 7   |
| <i>Авторы</i> .....   | 9   |
| <i>Принятые сокращения</i> .....                                  | 11  |
| <br>  |     |
| <b>Глава 1. Теоретические основы биохимического анализа</b> ..... | 13  |
| К. УИЛСОН (разд. 1.7 в соавторстве с Дж. Файффом)                 |     |
| 1.1. Общие понятия.....   | 13  |
| 1.2. Единицы измерения (размерности).....                         | 15  |
| 1.3. Слабые электролиты.....                                      | 22  |
| 1.4. Буферные растворы — их природа и способы приготовления.....  | 27  |
| 1.5. рН-электрод и кислородный электрод .....                     | 30  |
| 1.6. Количественный биохимический анализ.....                     | 41  |
| 1.7. Основы клинического биохимического анализа .....             | 62  |
| 1.8. Техника безопасности в лаборатории.....                      | 84  |
| 1.9. Дополнительная литература .....                              | 86  |
| <br>  |     |
| <b>Глава 2. Методы культивирования клеток</b> .....               | 87  |
| Э. БЕЙДОУН  |     |
| 2.1. Введение .....   | 87  |
| 2.2. Лаборатория и оборудование для культивирования клеток .....  | 88  |
| 2.3. Техника безопасности при работе с культурой клеток .....     | 93  |
| 2.4. Методы стерилизации и правила работы с культурой клеток..... | 94  |
| 2.5. Типы животных клеток. Характеристики клеток в культуре ..... | 98  |
| 2.6. Бактериальные клетки .....                                   | 111 |
| 2.7. Культуры растительных клеток .....                           | 115 |
| 2.8. Применение клеточных культур.....                            | 120 |
| 2.9. Дополнительная литература .....                              | 121 |

|   |     |
|---|-----|
| <b>Глава 3. Центрифугирование</b> .....   | 122 |
| К. ОЛЕНДИК  |     |
| 3.1. Введение .....   | 122 |
| 3.2. Теоретические основы седиментации.....   | 123 |
| 3.3. Типы центрифуг. Правила работы и техника безопасности .....                              | 128 |
| 3.4. Препаративное центрифугирование .....  | 137 |
| 3.5. Аналитическое центрифугирование.....   | 146 |
| 3.6. Дополнительная литература .....  | 151 |
| <b>Глава 4. Микроскопия</b> .....   | 152 |
| С. ПЭДДОК   |     |
| 4.1. Введение .....   | 152 |
| 4.2. Световой микроскоп.....  | 155 |
| 4.3. Оптические срезы .....   | 168 |
| 4.4. Визуализация живых клеток и тканей .....   | 173 |
| 4.5. Стереомикроскоп.....   | 177 |
| 4.6. Электронный микроскоп.....   | 177 |
| 4.7. Получение изображений в биохимии .....   | 182 |
| 4.8. Специальные методы получения изображения.....  | 185 |
| 4.9. Сохранение изображений, их представление<br>и другая информация .....                    | 186 |
| 4.10. Дополнительная литература .....   | 187 |
| <b>Глава 5. Теоретические основы молекулярной биологии<br/>и биоинформатики. Методы</b> ..... | 189 |
| Р. РЕЙПЛЭЙ  |     |
| 5.1. Введение .....   | 189 |
| 5.2. Структура нуклеиновых кислот .....   | 190 |
| 5.3. Гены и структура генома .....  | 197 |
| 5.4. Локализация и упаковка нуклеиновых кислот .....  | 201 |
| 5.5. Функции нуклеиновых кислот .....   | 203 |
| 5.6. Манипуляции с нуклеиновыми кислотами:<br>основные инструменты и методы .....             | 215 |
| 5.7. Выделение и разделение нуклеиновых кислот.....   | 216 |
| 5.8. Молекулярная биология и биоинформатика.....  | 224 |
| 5.9. Молекулярный анализ последовательностей нуклеиновых кислот.....                          | 226 |
| 5.10. Полимеразная цепная реакция .....   | 234 |
| 5.11. Определение первичной нуклеотидной<br>последовательности ДНК (секвенирование) .....     | 244 |
| 5.12. Дополнительная литература .....   | 252 |
| <b>Глава 6. Рекомбинантная ДНК и генетический анализ</b> .....                                | 253 |
| Р. РЕЙПЛЭЙ  |     |
| 6.1. Введение .....   | 253 |
| 6.2. Библиотеки генов.....  | 254 |

|   |            |
|---|------------|
| 6.3. Векторы для клонирования .....   | 264        |
| 6.4. Гибридизация и зонды .....   | 284        |
| 6.5. Скрининг геномных библиотек (клонотека) .....                                  | 286        |
| 6.6. Применение клонирования генов .....  | 290        |
| 6.7. Экспрессия чужеродных генов .....  | 296        |
| 6.8. Анализ генов и их экспрессии .....   | 302        |
| 6.9. Анализ целых геномов .....   | 317        |
| 6.10. Фармакогеномика .....   | 324        |
| 6.11. Молекулярная биотехнология и ее применение .....                              | 324        |
| 6.12. Дополнительная литература .....   | 327        |
| <b>Глава 7. Иммунохимические методы</b> .....                                       | <b>328</b> |
| Р. ТОРП и С. ТОРП   |            |
| 7.1. Введение .....   | 328        |
| 7.2. Получение антител .....  | 334        |
| 7.3. Очистка иммуноглобулинов и получение их фрагментов .....                       | 346        |
| 7.4. Иммунопреципитация .....   | 353        |
| 7.5. Мечение антител .....  | 360        |
| 7.6. Иммуноблоттинг .....   | 368        |
| 7.7. Иммуноанализ .....   | 370        |
| 7.8. Иммуногистохимические и иммуноцитохимические методы .....                      | 381        |
| 7.9. Аффинность и avidность .....   | 387        |
| 7.10. Поверхностный плазмонный резонанс в иммунохимии .....                         | 388        |
| 7.11. Дополнительная литература .....   | 388        |
| <b>Глава 8. Структура белков. Функциональный анализ<br/>и методы очистки</b> .....  | <b>390</b> |
| ДЖ. УОЛКЕР  |            |
| 8.1. Ионные свойства аминокислот и белков .....                                     | 390        |
| 8.2. Структурная организация белков .....   | 394        |
| 8.3. Очистка белков .....   | 398        |
| 8.4. Методы определения строения белка .....  | 421        |
| 8.5. Протеомика. Функции белка .....  | 437        |
| 8.6. Дополнительная литература .....  | 449        |
| <b>Глава 9. Методы масс-спектрометрии</b> .....                                     | <b>450</b> |
| Э. ЭЙТКЕН   |            |
| 9.1. Введение .....   | 450        |
| 9.2. Ионизация .....  | 452        |
| 9.3. Масс-анализаторы .....   | 459        |
| 9.4. Детекторы .....  | 477        |
| 9.5. Получение структурной информации<br>методом тандемной масс-спектрометрии ..... | 477        |
| 9.6. Анализ белковых комплексов .....   | 490        |
| 9.7. Обработка результатов. Анализ баз данных .....                                 | 494        |
| 9.8. Дополнительная литература .....  | 496        |

|  |     |
|--|-----|
| <b>Глава 10. Методы электрофореза</b> .....                                | 498 |
| ДЖ. УОЛКЕР   |     |
| 10.1. Основы метода.....   | 498 |
| 10.2. Матрица .....  | 502 |
| 10.3. Электрофорез белков .....  | 507 |
| 10.4. Электрофорез нуклеиновых кислот .....                                | 524 |
| 10.5. Капиллярный электрофорез .....                                       | 529 |
| 10.6. Электрофорез на микрочипах .....                                     | 535 |
| 10.7. Дополнительная литература .....                                      | 536 |
| <b>Глава 11. Хроматографические методы</b> .....                           | 537 |
| К. УИЛСОН  |     |
| 11.1. Теоретические основы хроматографии .....                             | 537 |
| 11.2. Параметры хроматографического процесса .....                         | 542 |
| 11.3. Жидкостная хроматография (LPLC и ВЭЖХ) .....                         | 553 |
| 11.4. Адсорбционная хроматография .....                                    | 570 |
| 11.5. Распределительная хроматография.....                                 | 574 |
| 11.6. Ионобменная хроматография .....                                      | 580 |
| 11.7. Эксклюзионная хроматография (гель-фильтрация) .....                  | 585 |
| 11.8. Аффинная хроматография .....   | 589 |
| 11.9. Газожидкостная хроматография .....                                   | 596 |
| 11.10. Тонкослойная (планарная) хроматография .....                        | 603 |
| 11.11. Выбор хроматографической системы.....                               | 606 |
| 11.12. Дополнительная литература .....                                     | 607 |
| <b>Глава 12. Методы спектроскопии.</b>                                     |     |
| <b>I. Атомная и молекулярная спектроскопия</b> .....                       | 608 |
| Д. ГОРДОН  |     |
| 12.1. Введение .....   | 608 |
| 12.2. Гамма-спектроскопия и гамма-резонансная<br>спектроскопия.....        | 612 |
| 12.3. Рентгеновская спектроскопия .....                                    | 613 |
| 12.4. Спектроскопия в ультрафиолетовой<br>и видимой областях спектра ..... | 615 |
| 12.5. Спектрофлуориметрия .....  | 629 |
| 12.6. Метод кругового дихроизма .....                                      | 639 |
| 12.7. Турбидиметрия и нефелометрия .....                                   | 642 |
| 12.8. Люминометрия .....   | 643 |
| 12.9. Атомная спектроскопия.....   | 646 |
| 12.10. Лазеры .....  | 651 |
| 12.11. Дополнительная литература .....                                     | 652 |

---

|   |     |
|---|-----|
| <b>Глава 13. Методы спектроскопии.</b>  |     |
| <b>II. Колебательная спектроскопия.</b>   |     |
| <b>Спектроскопия ЭПР и ЯМР</b> .....  | 653 |
| Д. ГОРДОН   |     |
| 13.1. Введение .....  | 653 |
| 13.2. Инфракрасная спектроскопия<br>и спектроскопия комбинационного рассеяния ..... | 654 |
| 13.3. Метод электронного парамагнитного резонанса.....                              | 657 |
| 13.4. Метод ядерного магнитного резонанса .....                                     | 664 |
| 13.5. Дополнительная литература .....   | 681 |
| <b>Глава 14. Радиоизотопные методы</b> .....  | 682 |
| Р. СЛЕЙТЕР  |     |
| 14.1. Природа радиоактивности.....  | 682 |
| 14.2. Методы детектирования и измерения радиоактивности .....                       | 690 |
| 14.3. Другие практические аспекты измерения радиоактивности .....                   | 715 |
| 14.4. Преимущества и ограничения экспериментов<br>с радиоактивной меткой.....       | 720 |
| 14.5. Техника безопасности .....  | 721 |
| 14.6. Радиоизотопы в биологических исследованиях.....                               | 724 |
| 14.7. Дополнительная литература .....   | 729 |
| <b>Глава 15. Ферменты</b> .....   | 730 |
| К. УИЛСОН   |     |
| 15.1. Общая характеристика. Номенклатура .....                                      | 730 |
| 15.2. Методы изучения ферментативных реакций.....                                   | 734 |
| 15.3. Стационарная кинетика ферментативных реакций .....                            | 747 |
| 15.4. Активные центры ферментов и механизмы катализа .....                          | 771 |
| 15.5. Регуляция активности ферментов .....  | 778 |
| 15.6. Дополнительная литература .....   | 788 |
| <b>Глава 16. Мембранные рецепторы</b> .....   | 789 |
| К. УИЛСОН   |     |
| 16.1. Роль рецепторов в передаче сигнала.....                                       | 789 |
| 16.2. Количественные аспекты связывания лигандов с рецепторами ....                 | 790 |
| 16.3. Методы изучения лиганд-рецепторного взаимодействия.....                       | 800 |
| 16.4. Структура рецепторов .....  | 819 |
| 16.5. Механизмы передачи сигнала .....  | 825 |
| 16.6. Десенсибилизация и перемещение рецепторов .....                               | 838 |
| 16.7. Дополнительная литература .....   | 842 |