

<<冷泉港蛋白质组学实验手册>>

图书基本信息

书名：<<冷泉港蛋白质组学实验手册>>

13位ISBN编号：9787122141217

10位ISBN编号：7122141217

出版时间：2012-9

出版时间：化学工业出版社

作者：[美]A.J.林克（Andrew J.Link），J.拉巴厄（Joshua LaBaer）编，曾明 等译

页数：194

字数：292000

版权说明：本站所提供下载的PDF图书仅提供预览和简介，请支持正版图书。

更多资源请访问：<http://www.tushu007.com>

## &lt;&lt;冷泉港蛋白质组学实验手册&gt;&gt;

## 前言

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,生命科学每时每刻离不开实验,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,邀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!

## <<冷泉港蛋白质组学实验手册>>

化学工业出版社生物·医药出版分社译者的话基因组学研究揭示了生命的蓝图，而功能基因组学研究才能使我们真正了解生命的本质。

蛋白质是生命活动的体现者，以其作为研究对象的蛋白质组学是功能基因组学研究的重要组成部分。由于蛋白质几乎参与并主导了生物体中的任何一种生命活动，所以当疾病发生时其往往处于问题的核心，并且几乎所有药物都是通过修饰蛋白质功能起作用。

这决定了蛋白质在疾病发病机理及防治研究中举足轻重的地位。

同时，正是由于蛋白质参与了各种各样、形形色色的生命活动，使其具有独特的化学特性，远比通过以较为单一的氢键配对形成的DNA复杂得多。

因此，针对蛋白质研究的方法也多种多样，并且随着物理、化学等其他学科的发展，不断产生新的研究方法。

但是，这些方法无论在成熟度还是在高通量方面都需要进一步发展。

为了迎接蛋白质组学研究时代的到来，Andrew J. Link和Joshua LaBaer教授通过对6年多来的蛋白质组学课程的教学实践，在不断修改与完善的基础上，总结出版了本书，包括各种蛋白质制备和分离方法、质谱分析的一般方法、用于蛋白质表达的编码序列的高通量克隆、蛋白质芯片的制备和使用以及验证这些数据的分析方法等内容。

冷泉港实验室的《分子克隆实验指南》曾影响了一代又一代国内的分子生物学研究的科学工作者，希望本书也能对国内蛋白质组学研究起到一定的推动作用。

中国食品药品检定研究院和军事医学科学院生物工程研究所的相关实验室多年来一直从事蛋白质组学研究工作，在化学工业出版社的大力支持下，近年来在学习与工作之余组织了工作在科研一线的研究人员和研究生翻译了包括该手册在内的多本蛋白质组学专著。

由于蛋白质组学的快速发展，而我们的知识有限，译文中难免存在疏漏和谬误之处，恳请同行和广大读者不吝指正，译者将不胜感激。

译者

## <<冷泉港蛋白质组学实验手册>>

### 内容概要

本书为美国冷泉港实验室蛋白质组学课程培训用书，为蛋白质组学工作者案头必备实验手册。内容涉及各种蛋白质制备和分离方法、质谱分析的一般方法、用于蛋白质表达的编码序列的高通量克隆、蛋白质芯片的制备和使用以及验证这些数据的分析方法等内容。书中附有大量的以step-by-step形式展现的操作程序，针对关键性步骤增加说明性文字加以点拨，并有信息框阐述关键的知识点，具有很强的实用性和可操作性。本书适用于生物、医学基础和药学等专业研究生、高年级本科生和相关研究人员查阅参考。

## &lt;&lt;冷泉港蛋白质组学实验手册&gt;&gt;

## 书籍目录

- 简介1实验1全细胞裂解物的双向凝胶电泳和MALDI 质谱分析
- 操作程序1.1酵母细胞裂解液的制备
- 操作程序1.2IPG胶条的再水化和等电聚焦
- 操作程序1.3等电聚焦胶条的平衡
- 操作程序1.4第二向--SDS.PAGE
- 操作程序1.5用SYPRO Ruby进行全蛋白染色
- 操作程序1.6用Pro.Q Diamond进行磷酸化蛋白染色
- 操作程序1.7用Pro.Q Emerald进行糖蛋白染色
- 操作程序1.8用考马斯亮蓝进行全蛋白染色
- 操作程序1.9用质谱兼容的银染进行全蛋白染色
- 操作程序1.102D胶的图像分析和蛋白质回收
- 操作程序1.11胶内酶切
- 操作程序1.12MALDI点靶29实验2用于质谱分析的蛋白质复合物的纯化
- 操作程序2.1培养并收集TAP标记的酵母细胞
- 操作程序2.2为纯化TAP标记蛋白质复合物制备酵母细胞抽提物
- 操作程序2.3第一步亲和富集--利用IgG亲和色谱从酵母抽提物中捕获TAP标记的蛋白质复合物
- 操作程序2.4第二步亲和富集--TAP.标记的蛋白质复合物的钙调蛋白亲和色谱
- 操作程序2.5与磁珠的结合
- 操作程序2.6蛋白质复合物的亲和纯化
- 实验3用MALDI TOF/TOF串联质谱进行肽的定性和定量分析
- 操作程序3.1实验描述
- 实验4蛋白质复合物分析--高灵敏液相色谱与串联质谱联用
- 操作程序4.1HPLC柱毛细管的制作
- 操作程序4.2填装微毛细管FSC柱
- 操作程序4.3微毛细管RP.HPLC与ESI.质谱联用
- 实验5用IMAC和质谱分析磷酸化肽
- 操作程序5.1制备IMAC样品
- 操作程序5.2制备IMAC柱和反相捕获柱（前柱）
- 操作程序5.3制备IMAC柱
- 操作程序5.4样品处理
- 实验6全细胞裂解物的多维蛋白质鉴定技术分析
- 操作程序6.1使用多维蛋白质鉴定技术分析全细胞裂解物
- 实验7全细胞提取物的定量质谱检测技术(iTRAQ)
- 操作程序7.1从酵母细胞制备肽
- 操作程序7.2以iTRAQ试剂标记肽
- 操作程序7.3应用反向色谱柱提纯肽
- 操作程序7.4多肽等电聚焦95实验8串联质谱数据的分析及确认
- 操作程序8.1使用Global Proteome Machine系统分析LC.MS/MS数据
- 操作程序8.2使用ProteinPilot软件进行肽段和蛋白质鉴定
- 操作程序8.3对数据库检索程序鉴定为能够匹配肽段序列的MS/MS谱图
- 进行评价118实验9开放阅读框的高通量克隆--构建大量表达结构
- 操作程序9.1利用Gateway LR反应构造表达结构
- 操作程序9.2用Gateway LR反应产物化学转化感受态细菌
- 实验10蛋白质微阵列的构建--核酸可编程性蛋白质阵列
- 操作程序10.1用氨基甲硅烷包被载玻片

<<冷泉港蛋白质组学实验手册>>

操作程序10.2在96孔板中制备细菌的培养物  
操作程序10.3从96孔板中分离质粒DNA  
操作程序10.4DNA的生物素化、沉淀及样品布阵  
操作程序10.5NAPPA载玻片上蛋白质的表达  
操作程序10.6检测NAPPA载玻片上的蛋白质  
操作程序10.7在NAPPA芯片上测定DNA151  
实验11使用核酸可编程性蛋白质阵列鉴定蛋白质.蛋白质相互作用  
操作程序11.1NAPPA芯片与查询蛋白共表达  
操作程序11.2在NAPPA芯片上检测查询蛋白  
附录1钠升电喷雾电离离子源和串联质谱装置和示范  
附录2溶液内蛋白质的消化  
附录3凝胶内胰酶消化已分离蛋白  
附录4三氯乙酸蛋白质沉淀法  
附录5氨基酸的单同位素和亚铵离子分子量  
附录6氨基酸二肽分子量  
附录7LTQ离子阱的使用方法  
附录8肽段混合物离线去盐  
附录9感受态细胞的制备  
附录10DNA的定量  
附录11注意事项  
索引



## &lt;&lt;冷泉港蛋白质组学实验手册&gt;&gt;

## 章节摘录

开始解析结果之前，记住以下几个关键点是非常重要的。

数据库检索是没有偏向性的。

数据库中所有的蛋白质和肽段序列都会与每个MS / MS谱图进行常规对比。

检索引擎不会做关于样品中可能存在什么蛋白质的任何假设。

这也许是此技术最为重要和最为有力的方面。

出乎预期的蛋白质能够被鉴定到，研究者可能没有预计到这些蛋白质会在样品中存在。

只有蛋白质数据库中存在的肽段和蛋白质会在输出文件中列出。

如果一个蛋白质或肽段的序列不在数据库中，那它将不会被鉴定到。

检索算法不会进行MS / MS谱图的从头序列分析（de novo sequencing）并产生肽段序列。

程序只会使用设置的参数将数据库中的肽段序列与MS / MS谱图进行匹配。

分子量大的蛋白质与分子量小的蛋白质相比，更容易被鉴定到。

LC—MS / MS方法只会将样品中胰酶消化后的全部肽段中的一部分进行碎裂。

一个蛋白质经胰酶消化后产生的肽段越多，此蛋白质产生的肽段被选择进行碎裂的机会就越多。

分子量小的蛋白质经胰酶消化后只会产生很少的几个肽段，有可能会逃脱检测。

LC—MS / MS和MALDI—MS方法在碎裂来源于高峰度蛋白的肽段时存在偏好性。

由于选择母离子用于碎裂的过程通常根据离子峰的强度，因此离子强度较强的峰将被选择进行碎裂，一而离子强度较弱的峰将会被忽略并很可能逃脱碎裂。

尽管肽段离子化的效率不同，但是平均来讲，一个肽段或蛋白质的丰度越高，产生具有强信号母离子肽段的可能性就越大。

低丰度肽段和蛋白质会逃脱检测。

发生未知氨基酸改变或替换的肽段不会匹配到蛋白质数据库中的任一序列，也不会被列出。

再一次说明，不在数据库中的蛋白质序列不会被鉴定到。

某些数据库检索程序可以进行称之为“同源性”（homology）的检索，这种检索方式允许存在氨基酸替换。

任何具有在检索参数中没有指明的修饰氨基酸的肽段将不会被列出。

这些肽段将会逃脱检测。

检索程序只会检索并列出那些具有检索参数中已包含的修饰氨基酸的肽段。

既然LC—MS / MS的优缺点都与数据库检索分析息息相关，下面我们将描述一个用于初步评价数据库检索结果的方法。

<<冷泉港蛋白质组学实验手册>>

版权说明

本站所提供下载的PDF图书仅提供预览和简介，请支持正版图书。

更多资源请访问:<http://www.tushu007.com>