



Methods in Enzymology

酶学方法（丛书）

一、《酶学方法》丛书概览

1. 历史悠久，内容权威

➤ 始创于**1955**年，迄今已经有60多年的历史。

卷1 - Preparation and Assay of Enzymes（酶的制备与检测），这也是该丛书取名叫《酶学方法》的原因。

- ✓ 从创刊至今，涉及的领域和内容一直在扩大和更新，介绍的话题并不只限于酶学，而是逐渐扩展到生命科学领域的各个研究方向
- ✓ 每一个主题既包含经典的背景知识介绍，同时又会包含具体的研究技术以及详细的实验操作步骤
- ✓ 拥有**50,000**多个编辑和投稿者，其中有很多是诺贝尔奖获得者
- ✓ 是ScienceDirect上引用率和下载量最多的丛书

2. 覆盖领域广

◆这不是一本仅仅介绍酶学的书，而是覆盖了生命科学的各个分支学科的一系列丛书

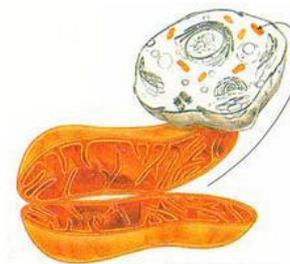
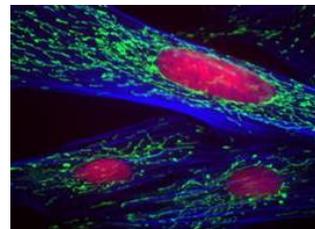
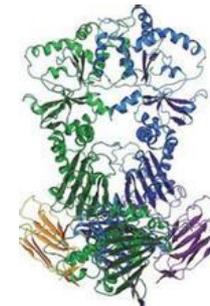
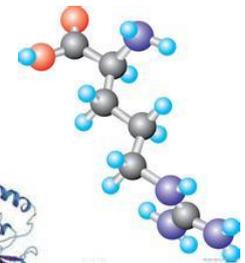


※《酶学方法》是生命科学领域的研究人员基本而必备的参考资源

3. 介绍主题多

◆ 酶只是《酶学方法》丛书中的主题之一，是所涵盖的所有主题的冰山一角

- ❖ DNA, RNA, 核小体, 染色质
- ❖ 蛋白质（包括很多具有催化功能的酶）
- ❖ 碳水化合物, 糖生物学, 脂质, 氨基酸
- ❖ 维生素&激素, 干扰素, 生长因子
- ❖ 嘌呤和嘧啶核苷酸的代谢, 抗体, 淀粉样蛋白, 朊病毒
- ❖ G蛋白偶联受体, 信号分子及关键的信号蛋白
- ❖ 泛素和蛋白降解, 分子伴侣, 蛋白质折叠
- ❖ 活性氧自由基, 巯基
- ❖ 黄酮多酚类, 类固醇和萜类化合物, 细胞色素
- ❖ 神经递质
- ❖ 血红蛋白, 血小板
- ❖ 细胞膜, 离子通道, 线粒体, 核糖体
- ❖ 细胞骨架, 细胞外基质
- ❖



4. 包含各种相关实验操作指南

◆介绍了生命科学领域涉及到的各项技术

- ❖ 酶的分离纯化，亲和标记，酶动力学机理
- ❖ 转基因，真核系统中基因的重组表达，RNA干扰，基因芯片，基因治疗
- ❖ 生物大分子结晶，生物大分子的测序分析，
- ❖ 细胞培养
- ❖ 免疫化学
- ❖ 细胞信号转导研究技术
- ❖ 活体细胞的成像和光谱技术，核磁共振，激光显微捕获，共聚焦显微技术
- ❖ 基因组学，转录组学，蛋白组学，代谢组学，功能糖组学
- ❖ 高效液相色谱，质谱
- ❖ 计算机模拟，药物设计，药物核酸相互作用，蛋白质-蛋白质相互作用
- ❖ 小鼠发育生物学研究技术
- ❖ 天然产物的生物合成
- ❖ 干细胞和组织培养技术
- ❖ 重要疾病的研究如：癌症，糖尿病
- ❖

5. 还在持续更新和补充出版中.....

- ✓每年都会出版十几个卷册，及时捕捉和总结生命科学领域的新近研究内容及研究技术
- ✓从这本书中可以获得一站式服务的体验，包括背景知识以及研究技术和详细操作指南
- ✓便于研究者用最短的时间获得相关话题最全面最权威的信息。

二、经典卷册案例介绍

案例一: *Volume 58 - Cell Culture* 细胞培养

Culture cells in vitro simulating in vivo environment

cell culture medium



Cell culture dish



cell culture incubator



Sterile work table

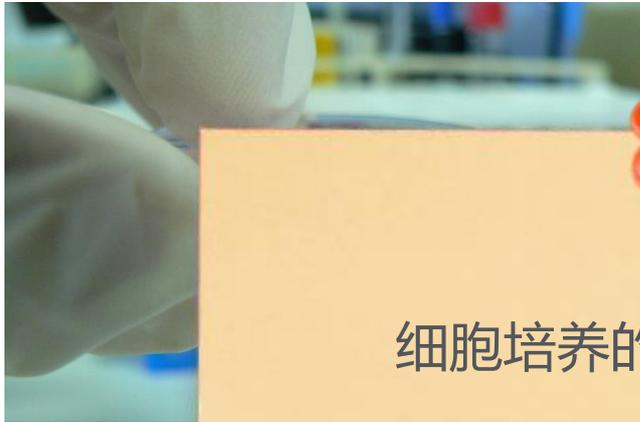


Pipette



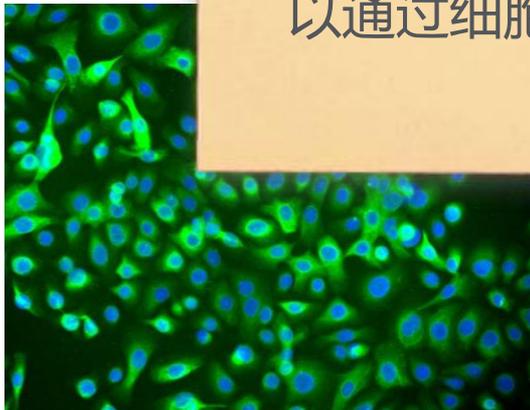
Microscope

案例一： *Volume 58 - Cell Culture* 细胞培养



细胞培养的应用非常广泛

生物化学家感兴趣的很多问题都可以通过细胞培养而获得相应的答案



案例一：Volume 58 - Cell Culture 细胞培养

➤ 该卷册分为三大部分，满足了科研人员对于细胞培养知识的一般需求和特殊需求

Part 1

介绍细胞培养的工具和基本方法

- 细胞培养基的选择
- 抗生素的使用
- 细胞的生长条件
- 细胞的储存和运输
- 细胞污染的检测
- 实验室细胞培养的管理及安全防范
-

Part 2

介绍特别有用的特殊的细胞培养技巧

- 人工血管的组织培养
- 干扰素的诱导和生产
- 细胞转化
- 细胞融合
- 细胞生长产物的收集
- 哺乳动物细胞的大规模培养
- 流式细胞术
- 通过细胞转化检测化学品的致癌性
-

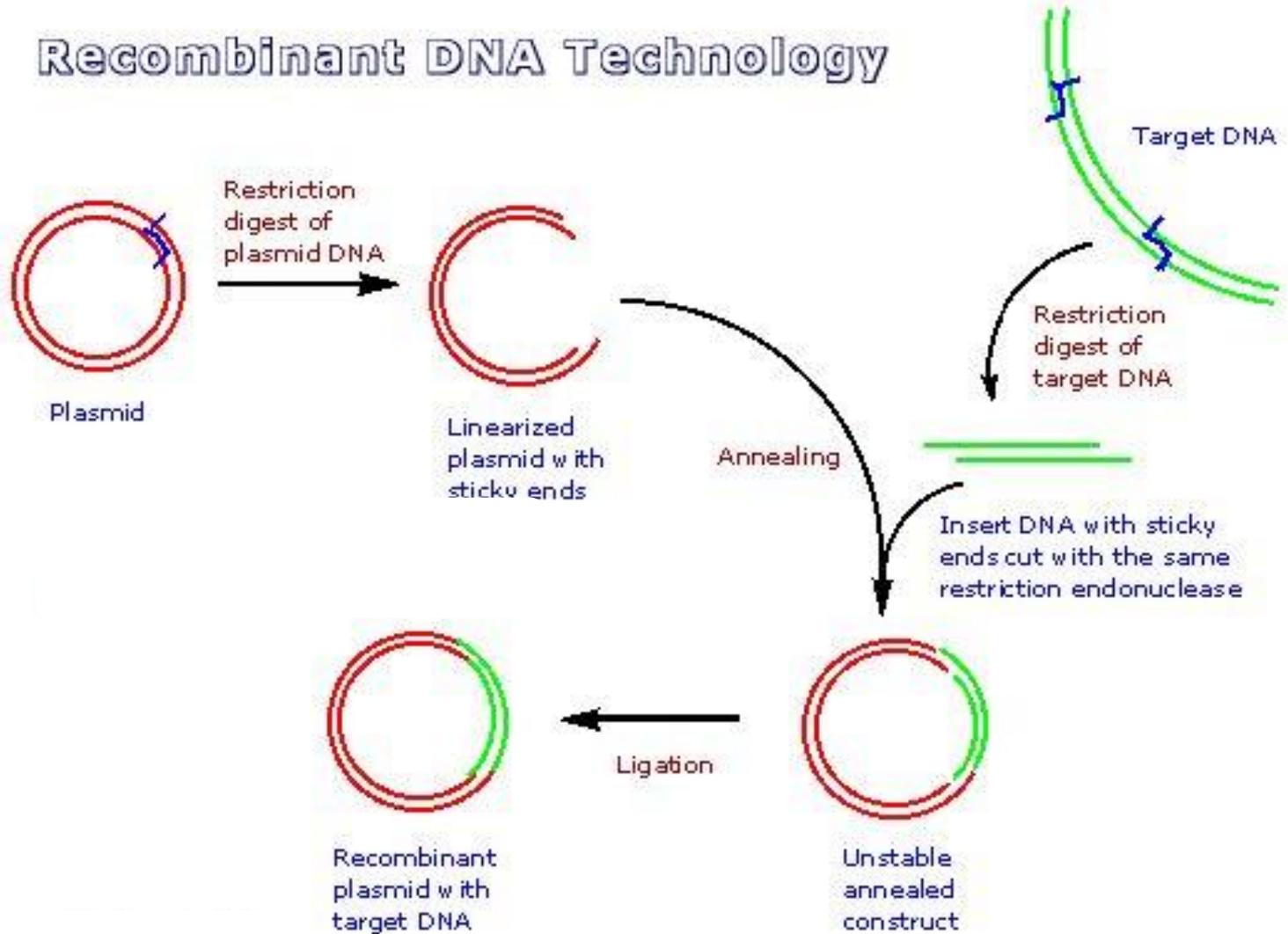
Part 3

介绍了针对不同细胞类型的具体培养方法

- 骨骼肌细胞
- 干细胞
- 成纤维细胞
- 黑色素细胞
- 小鼠白血病细胞
- 肾上腺皮质细胞
- 大规模制备软骨细胞
- 巨噬细胞
- 交感神经元细胞的分离和培养
-

案例二: *Volume 101 - Recombinant DNA* 重组DNA

Recombinant DNA Technology



案例二: *Volume 101 - Recombinant DNA* 重组DNA

GMO genetically-modified organism

Non-GMO Soybeans

非轉基因大豆



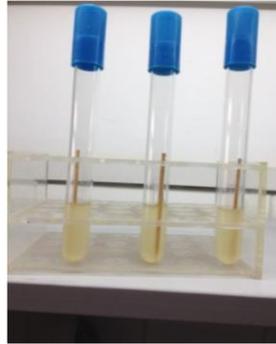
案例二： *Volume 101 - Recombinant DNA* 重组DNA

- 重组DNA技术使得研究人员解决复杂性的生物学问题的方法发生了革命性的变化，利用这一技术可以在医药，农业，工业领域生产出新的，更好的产品。
- 时下备受争论的热点话题转基因食品（GMO）所应用的核心技术就是DNA重组
- 《酶学方法》中关于DNA重组的卷册讲述了DNA分离，杂交，克隆，突变，基因产物的分离方法以及基因克隆的不同载体系统，比如在酵母细胞中进行基因的克隆等等。
- **Volume100,101,153,154,155-Recombinant DNA** 都是关于重组DNA的介绍。其中**Volume 101**的投稿者包括诺贝尔奖得主**Sidney Brenner**（2002年诺贝尔生理学/医学奖）和 **Andrew Fire**（2006年诺贝尔生理学/医学奖）。
- 《酶学方法》中几乎有**20**卷是关于DNA的内容，关于这方面内容的卷册还将根据研究动态实时增加。

案例三: *Volume 152 - Guide to Molecular Cloning Techniques* 分子克隆



Pick up mono clone



37°C overnight



Expand culture to 2L



Centrifuge



Ultrasonic



Chromatography

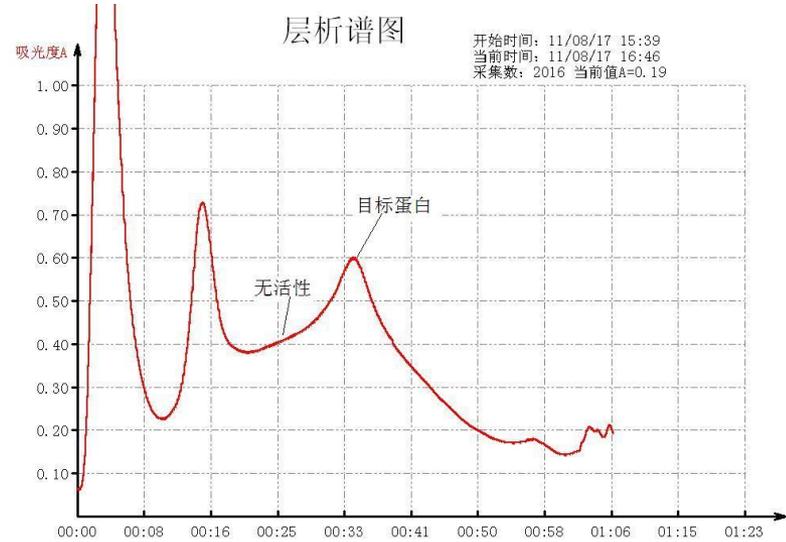
案例三： *Volume 152 - Guide to Molecular Cloning Techniques* 分子克隆

➤随着重组DNA技术的发展，核酸生物化学和分子生物学进入了一个快速发展的时代，对于生命科学领域的研究人员来说，尽管大家的研究方向不尽相同，但是分子克隆技术着实给研究人员提供了很多的方便。

➤分子克隆涉及复杂而繁多的信息，但该卷布局非常条理清晰。首先介绍了DNA重组技术的基本技巧，同时紧跟着一系列的章节，每一章节会解决一个实验过程中通常会遇到的问题。

➤既能满足初次接触分子生物学领域新人的需求，同时也为该领域中有一定经验的研究人员提供非常有价值的信息和操作指南。

案例四: *Volume 182 - Guide to Protein Purification* 蛋白质分离纯化



Purified protein



案例四： *Volume 182 - Guide to Protein Purification* 蛋白质分离纯化

➤DNA经过转录和翻译最终生成蛋白质，蛋白质是基因功能的执行者和生命活动的体现者。随着生命科学的发展，越来越多的问题需要上升到蛋白的水平上来进行研究，而且有很多的具有催化功能的蛋白质是酶，对这些蛋白质或酶的研究就需要得到它们的纯化物。

➤2010年，在Richard Burgess和原编辑Murray Deutcher的组织下，该卷在之前相关卷册的基础上增加了新的内容和研究技术

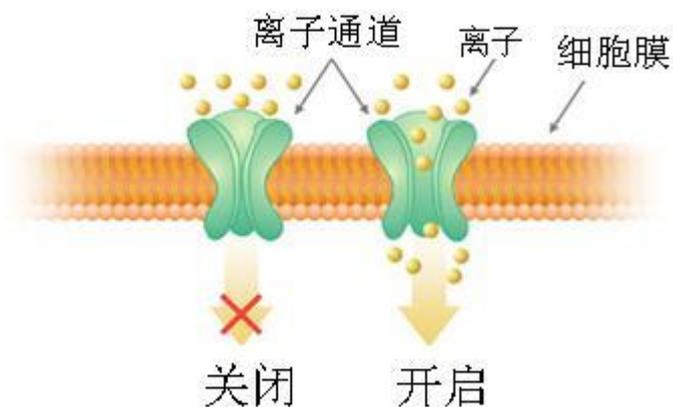
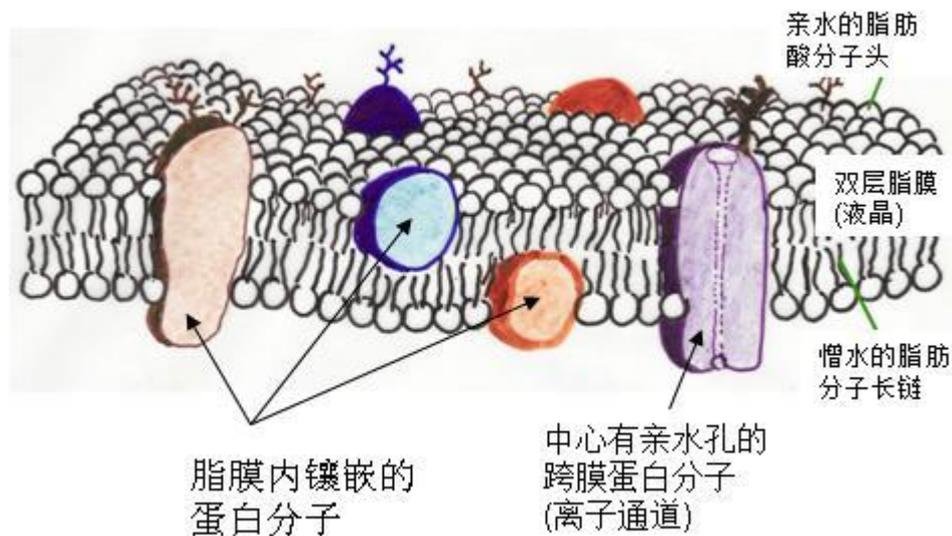
Volume
182

蛋白质纯化方法及
注意事项

研究蛋白质结构和功
能的关键技术

- 蛋白质的纯化技术，溶液的配置
- 酶活性的测定，蛋白质的定量及纯度检测
- 蛋白质稳定性的保持
- 在*E.coli*以及真核细胞中进行蛋白过表达的策略
- 细胞器的分离
- 膜蛋白的可溶性，膜蛋白的纯化，糖蛋白的纯化，多酶复合物的纯化
- 离子交换层析，凝胶过滤，亲和层析，高效液相层析
- 蛋白质的电泳及二维电泳，胶内回收蛋白
- 组成蛋白质的氨基酸分析
- 蛋白质修饰的分析
- 蛋白质结晶
- 单/多克隆抗体的制备，蛋白质的免疫检测，免疫共沉淀
- 蛋白质的放射性标记
- 通过计算机分析蛋白质的

案例五: *Volume 207 - Ion Channels* 离子通道



- ❖ 离子通道由细胞产生的特殊蛋白质构成，它们聚集起来并镶嵌在细胞膜上，中间形成水分子占据的孔隙，这些孔隙就是水溶性物质快速进出细胞的通道。离子通道是目前很多处方药调控的重要靶点。

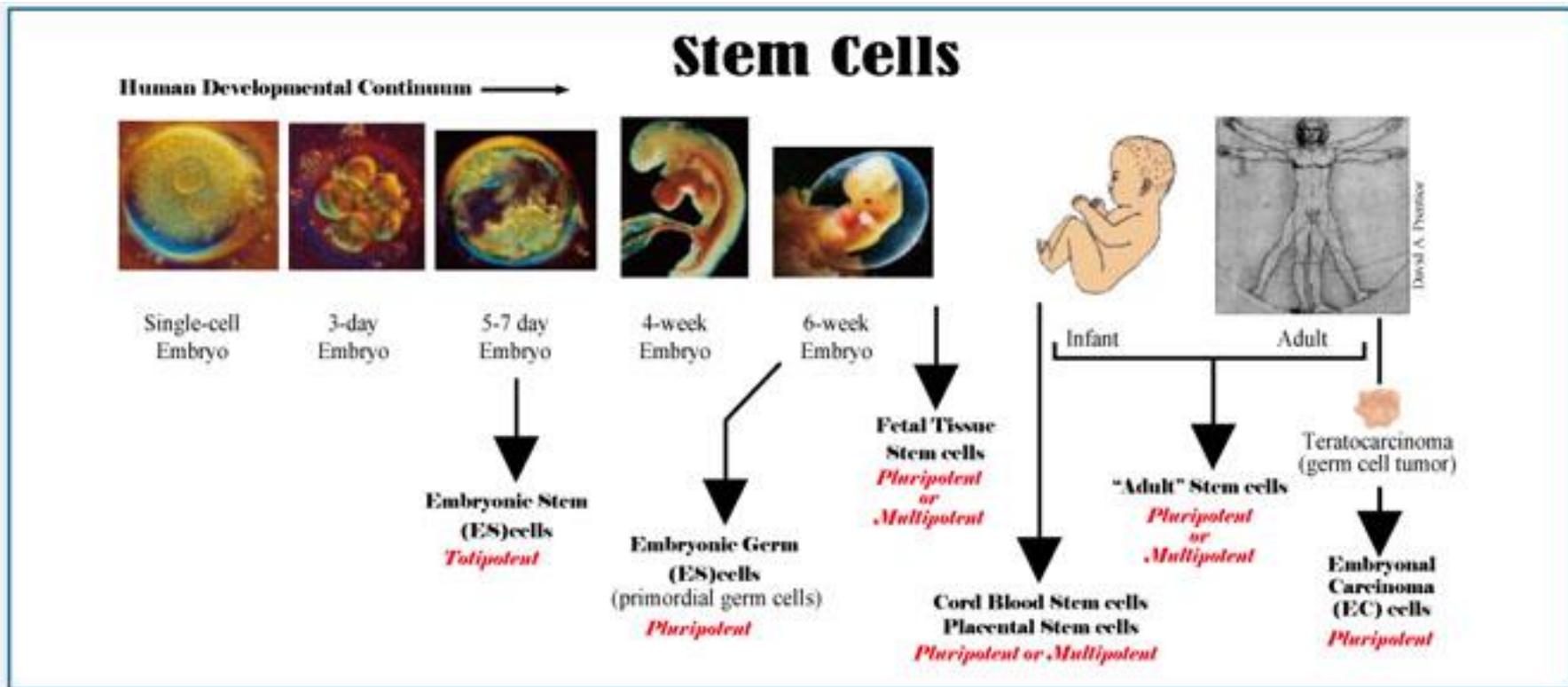
案例五: *Volume 207 - Ion Channels* 离子通道

- 诺贝尔奖得主Erwin Neher（1991年诺贝尔生理学/医学奖），致力于《酶学方法》中这一卷的撰写。

- 该卷对离子通道的讲述包括：
 - 离子通道蛋白的克隆表达，纯化
 - 膜离子通道重建技术
 - 电生理与膜片钳技术等等

- 该卷不仅对细胞膜方面的研究人员有用，而且为细胞生物学，生物化学，分子生物学，药理学以及微生物学方面的研究人员提供非常有用的离子通道方面的信息。

案例六: *Stem Cells* 干细胞



干细胞分类

- 干细胞分为胚胎干细胞和成体干细胞
- 干细胞具有分化成机体其它各组织的能力，因此引起生命科学领域以及临床领域研究人员的极大的兴趣。
- 干细胞可用于器官移植以及再生医学。

案例六: *Stem Cells* 干细胞

- ❖ 早在2003年《酶学方法》中**Volume 365-Differentiation of Embryonic Stem Cells** 胚胎干细胞的分化一卷中就介绍了干细胞的相关知识。
- ❖ 2006年-2007年又陆续出版了三卷分别是:
 - Volume 418-Embryonic Stem Cells** 胚胎干细胞
 - Volume 419-Adult Stem Cells** 成体干细胞
 - Volume 420-Stem Cell Tools and Other Experimental Protocols**
干细胞工具和相关的实验指南
- ❖ 这几个卷册以短小精悍的**review**的形式介绍了胚胎干细胞, 成体干细胞以及干细胞研究技术和组织工程。
- ❖ 同时紧接着会提供一套相应的实验操作指南, 实验指南介绍的非常清晰易懂, 即使是没有经验的研究人员也能很快地在实验室中建立这套技术。

案例七：专门介绍实验操作指南的卷册

- 《酶学方法》有很多卷册是专门介绍实验方法和具体操作指南的如：

Volume 529-Laboratory Methods in Enzymology: DNA

Volume 530- Laboratory Methods in Enzymology: RNA

Volume 533- Laboratory Methods in Enzymology: Cell, Lipid and Carbohydrate

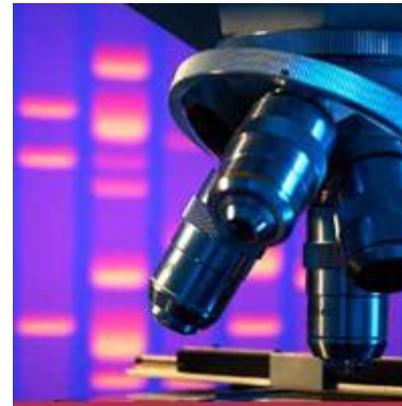
Volume 536&539&541-Laboratory Methods in Enzymology: Protein

Volume 537&538 - Methods of Adipose Tissue Biology

.....

案例七：专门介绍实验操作指南的卷册

- ✓ 详细的实验操作步骤
- ✓ 缓冲液和试剂的配方
- ✓ 实验操作流程表和图片
- ✓ 有些还会有**Video**来展示实验操作的关键步骤
- ✓ 这些实验指南不仅适用于刚接触该领域的本科生，同时也经验丰富的研究生，博士，博士后等研究人员



三、逻辑清晰的组织结构和友好的使用平台

使用平台: ScienceDirect 网址: www.sciencedirect.com

ScienceDirect Journals Books Remote access Sign in Help

Search all fields Author name --This Journal/Book-- Volume Issue Page Advanced search

Methods in Enzymology

- Get new article feed
- Subscribe to new volume alerts
- Add Book Series to Favorites

Copyright © 2015 Elsevier Inc. All rights reserved.

Add Volume to Favorites

- 每一卷册聚焦某一个研究领域或者研究话题
- 每一个卷册根据具体话题通常包含20-25篇文章

Articles In Press

Volume 666 pp. 2-651 (2015) Membrane Proteins—Production and Functional Characterization

Volume 666 pp. 2-356 (2015) Hydrogen Sulfide in Redox Biology, Part B

Volume 664 pp. 2-327 (2015) Hydrogen Sulfide in Redox Biology, Part A

Volume 663 pp. 2-403 (2015) Computational Methods for Understanding Riboswitches

Volume 662 pp. 2-395 (2015) Circadian Rhythms and Biological Clocks, Part B

Export

Series Page Page ii PDF (16 K)

Copyright Page iv PDF (144 K)

Contributors Pages xv-xxi PDF (36 K)

Preface Pages xxii-xxiv Arun K. Shukla PDF (26 K)

All access types

Articles 1 - 32

Section I: Recombinant Expression of Membrane Proteins

有很多文章可以独立地给我们提供相关的信息，并不需要阅读整个的卷册，极大的节省了科研人员的时间

组织结构：每一个chapter就是一篇文章

ScienceDirect Journals Books Remote access Sign in Help

Download PDF Export More options... Search ScienceDirect Advanced search

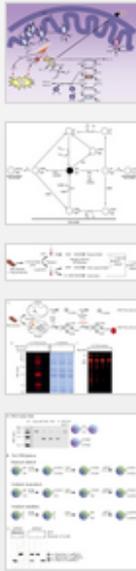
Article outline Show full outline

Abstract

1. Introduction
2. Quantification of Mitochondrial Pr...
3. Quantification of Glutathionylation...
4. Assessment of S-Nitrosated Prote...
5. Measurement of the Thioredoxin ...
6. Conclusions

Acknowledgments
References

Figures and tables



Methods in Enzymology
Volume 474, 2010, Pages 123-147
Thiol Redox Transitions in Cell Signaling, Part B: Cellular Localization and Signaling

Chapter 8 – Measuring Mitochondrial Protein Thiol Redox State
Raquel Requejo[□], Edward T. Chouchani[□], Thomas R. Hurd[□], Katja E. Menger[□], Mark B. Hampton[†], Michael P. Murphy[□]

组织结构跟Journal上的文章一样

doi:10.1016/S0076-6879(10)74008-8 Get rights and content

Abstract

Protein thiols are an important component of mammalian intramitochondrial antioxidant defenses owing to their selective interaction with reactive oxygen and nitrogen species (ROS and RNS). Reversible modifications of protein thiols resulting from these interactions are also an important aspect of redox signal transduction. Therefore, to assess how mitochondria respond to oxidative stress and act as nodes in redox signaling pathways, it is important to measure general changes to protein thiol redox states and also to identify the specific mitochondrial thiol proteins involved. Here we outline some of the approaches that can be used to accomplish these goals and thereby infer the multiple roles of mammalian mitochondrial protein thiols in antioxidant defense and redox signaling.

1. Introduction

Mitochondria are central to much of metabolism and are also a major source of reactive oxygen species (ROS) within the cell; consequently, there is considerable interest in mitochondrial interactions with ROS under both normal and pathological conditions (Balaban et al., 2005, Finkel, 2005 and Murphy, 2009). The proximal ROS produced in mitochondria is superoxide ($O_2^{\bullet-}$), which is rapidly converted to hydrogen peroxide (H_2O_2) by the action of manganese superoxide dismutase (MnSOD) in the mitochondrial matrix (Murphy, 2009). A major way in which mitochondria deal with and respond to H_2O_2 is through a series of

Recommended articles

Chapter Four - Measuring the Redox State of Cellu...
2010, Methods in Enzymology [more](#)

Chapter 19 Measuring Redox Changes to Mitochon...
2009, Methods in Enzymology [more](#)

Quantification and identification of mitochondrial pr...
2010, Archives of Biochemistry and Biophysics [more](#)

[View more articles >](#)

Citing articles (10)

Related book content



Download PDF

Export

More options...

Search ScienceDirect



Advanced search

Article outline

 Show full outline

Abstract

Keywords

1. Theory

2. Equipment

3. Materials

4. Protocol

5. Step 1: Protein Transfer to a Mem...

6. Step 2: Western Blot Detection usi...

References

Source References

Figures and tables

Step 1

Step 2

Video 19.1



Methods in Enzymology

Volume 541, 2014, Pages 251–259

Laboratory Methods in Enzymology: Protein Part C



Chemiluminescent

[Get rights and content](#)

对于某些复杂的实验步骤，
还会提供Video，便于科研
人员直观的了解具体的实验
操作方法

Western blotting is a powerful and commonly used tool to identify and quantify a specific protein in a complex mixture (Towbin et al., 1979). The technique enables indirect detection of protein samples immobilized on a nitrocellulose or polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane.

Keywords

Horseradish peroxidase (HRP); Nitrocellulose membrane; Polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane; Protein transfer; SDS-PAGE; Western blotting

1. Theory

To detect the target protein, a primary antibody (polyclonal or monoclonal) against the target antigen is applied to the membrane as a probe. The membrane is washed and incubated with a horseradish peroxidase (HRP)-conjugated secondary antibody that is reactive toward the primary antibody. The membrane is washed again and incubated with an appropriate luminol-based chemiluminescent substrate. In the presence of HRP and a peroxide buffer, luminol oxidizes and forms an excited state product that emits light as it decays to the ground state. Light emission occurs only during the enzyme-substrate reaction and, therefore, once the substrate in proximity to the enzyme is exhausted, signal output ceases. The signal is evaluated with X-ray film or imaging instrumentation.

2. Equipment

Recommended articles

Chapter Twelve – One-dimensional SDS...

2014, Methods in Enzymology [more](#)

Western blotting

2006, Methods [more](#)

Detecting weak protein–protein interacti...

2011, Journal of Bioscience and Bioengineering [more](#)[View more articles »](#)

Citing articles (0)

Related reference work articles



3. METHODS

In order to best preserve structure and cellular components within adipose tissue and eliminate background fluorescence, perfusion fixation is recommended. Lower concentrations of fixative are typically employed to minimize auto-fluorescence. In addition, a gentle postfixation is beneficial immediately after tissue is removed. All buffers should be used at room temperature unless stated otherwise.

This protocol is routinely used for the collection of adipose tissue from different depots in experimental animal models. The use of similar techniques is possible with some adaptations.

3.1. Perfusion, collection

1. Euthanize animals via carbon dioxide asphyxiation and perfuse via slow intracardial perfusion with PBS containing PFA in PBS, pH 7.4 (volume of fixative to be used). Perfuse via manual or pump perfusion. The right atrium will facilitate retrograde perfusion.
2. Excise white adipose tissue from peritoneal, inguinal, retroperitoneal, and subcutaneous depots. Cut into 0.5–1 cm³ sized pieces or left intact.
3. Incubate in 5–10 mL of fixing buffer for 30 min at room temperature with gentle rocking on a rotating platform. Make sure the tissue is completely submerged in fixation buffer. Longer fixation may increase auto-fluorescence.
4. Rinse away the fixing buffer with three, 10-min washes with PBS, pH 7.4, under gentle rocking at room temperature. Tissues may be stored at 4 °C in PBS, pH 7.4, for up to 2 weeks.

✓ 与通常的Journal里的Research Article相比，这里具有更加详尽的实验操作步骤

✓ 详细权威的实验操作指南对做科研是必不可少的

3.2. Blocking

To prevent fluorochrome-conjugated antibodies from nonspecific binding, a blocking step is suggested. The addition of a detergent during the blocking step is required for the detection of intracellular antigens (see Section 2.1).

5. Cut a piece from the fixed adipose tissue for staining. Typically this is 0.5–0.75 cm³. Subsequent incubations are performed in 2 mL cylindrical

1 mL of blocking buffer (5% BSA in PBS), incubating at room temperature. For staining intracellular antigens, use this step with intracellular stain buffer.

Antibody

incubate in intracellular stain blocking buffer if appropriate. The volume of antibody cocktail. Using a 2 mL microcentrifuge tube, this is typically sufficient to fully submerge the tissue in solution and allow for efficient mixing.

Incubate in antibody cocktail for 1 h at room temperature with gentle rocking. Antibody cocktail may be used two more times if stored at 4 °C for up to 2 weeks.

Wash with PBS, pH 7.4, under gentle rocking, 10 min per wash, with PBS, pH 7.4 (or intracellular wash buffer if appropriate).

3.4. Secondary antibody incubation

10. Prepare fresh secondary antibody cocktail in 300 µL of antibody staining buffer (or use intracellular stain buffer) and incubate with gentle rocking for 1 h, covered, at room temperature.

Note: Titration may be necessary depending on the antibody source. Our laboratory typically uses AlexaFluor conjugated secondary antibodies (Molecular Probes by Life Technologies) at a dilution of 1:250 for a final concentration of 8 µg/mL.

If imaging vasculature structures, add the anti-isolectin antibody to the secondary antibody cocktail, refer to Table 2.1 for recommended concentrations.

11. Repeat step 9.

四、备受广泛的认可和引用

被国内外很多知名高校采纳

- ❖ 哈佛大学
- ❖ 美国国立卫生研究院
- ❖ 加利福尼亚大学
- ❖ 哥伦比亚大学
- ❖ 康奈尔大学
- ❖ 斯坦福大学
- ❖ 芝加哥大学
- ❖ 纽约大学
- ❖ 杜克大学
- ❖ 东京大学
- ❖ 香港大学
- ❖ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○



获得很多科研人员的推荐和认可

- ✓ “整套图书应该出现在世界上所有图书馆的书架上”
- ✓ “实验室参考最多的产品”
- ✓ “酶学方法系列代表着金准则”
- ✓ “无与伦比的有用性”
- ✓ “生物化学家的权威参考书”
- ✓ “酶学方法像一本食谱，一步一步地指导科研人员的实验室工作”



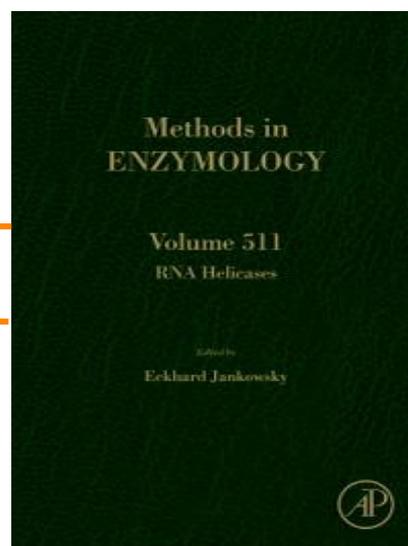
您选择《酶学方法》的几大理由



《酶学方法》——攀登生命科学科研顶峰的阶梯

500多卷包含了生命科学领域中众多研究方向

经典权威的背景知识对初学者或者是正在写基金或者是写毕业论文的研究人员都是宝贵的知识来源



每一卷册会根据一个研究方向由相关领域的顶级专家或者诺贝尔获奖者进行全面深度的剖析和介绍

详细具体的实验操作指南可以节省实验室一线科研人员寻找实验方法的时间，提高科研效率。

使用界面友好方便，还可以直接在Sciencedirect这个平台上链接到相关的journal，便于研究人员全面地了解某个领域。