

全国高等院校医学实验教学规划教材

生物化学与分子生物学实验

第2版

主编 王宏兰 李淑艳 潘洪明



科学出版社

全国高等院校医学实验教学规划教材

生物化学与分子生物学实验

第2版

主 编 王宏兰 李淑艳 潘洪明

副主编 张春晶 孙晓杰 吴 琦

编 者 (按姓氏笔画排序)

王宏兰(齐齐哈尔医学院)

王丽萍(齐齐哈尔医学院)

衣同辉(齐齐哈尔医学院)

刘秀财(齐齐哈尔医学院)

刘哲丞(齐齐哈尔医学院)

师 岩(齐齐哈尔医学院)

齐晓丹(齐齐哈尔医学院)

孙晓杰(齐齐哈尔医学院)

吴 琦(齐齐哈尔医学院)

张春晶(齐齐哈尔医学院)

杨秀珍(齐齐哈尔医学院)

李淑艳(齐齐哈尔医学院)

姜 颖(黑龙江中医药大学)

徐 晶(齐齐哈尔医学院)

徐文弟(哈尔滨医科大学)

郭红艳(齐齐哈尔医学院)

高 涵(齐齐哈尔医学院)

潘洪明(齐齐哈尔医学院)



科学出版社

北 京

· 版权所有 侵权必究 ·

举报电话: 010-64030229; 010-64034315; 13501151303(打假办)

内 容 简 介

本教材分为基础(验证性)实验、综合性实验、设计性实验和虚拟仿真实验四个部分。以层析技术、离心技术、电泳技术、盐析技术、蛋白质技术、PCR技术等分子生物学技术作为基础实验。综合性实验培训学生比较连贯的实验技术训练。设计性实验旨在培养学生设计实验的能力,锻炼学生独立思考问题、解决问题的能力。虚拟实验贯彻新的学习理念:信息化环境下的自主学习理念、协作学习理念、终身学习理念,节约教学资源,确保人员及环境的安全、具有传统实验无法替代的优势。

本教材适用于医学院校五年制本科基础、临床、护理、预防、口腔、法医、麻醉、影像、药学、检验等各专业学生。也可供教师和研究生参考。

图书在版编目(CIP)数据

生物化学与分子生物学实验 / 王宏兰, 李淑艳, 潘洪明主编. —2 版. —北京: 科学出版社, 2016.4

全国高等院校医学实验教学规划教材

ISBN 978-7-03-046797-3

I. ①生… II. ①王… ②李… ③潘… III. ①生物化学—实验—医学院校—教材②分子生物学—实验—医学院校—教材 IV. ①Q5-33②Q7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 001519 号

责任编辑: 朱 华 / 责任校对: 张怡君

责任印制: 赵 博 / 封面设计: 范璧合

版权所有, 违者必究。未经本社许可, 数字图书馆不得使用

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

新科印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2010 年 12 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2016 年 4 月第 二 版 印张: 11

2016 年 4 月第四次印刷 字数: 258 000

定价: 35.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

《全国高等院校医学实验教学规划教材》

编 委 会

主 主 副 编	审	张晓杰	郭金城				
	编	李 涛	张淑丽	高 音			
	主 编	潘洪明	朱坤杰	郑立红	刘伯阳	刘 婷	夏春辉
		姚立杰	廉 洁	王宏兰	李淑艳	付 双	
编	者	(按姓氏笔画排序)					
		于海涛	马 勇	王 玉	王 岩	王 洁	王 洋
		王 琚	王 斌	王玉阁	王立平	王丽萍	王宏兰
		王晓东	王海君	仇 惠	文丽波	邓凤春	石艳会
		卢长柱	田 华	付 双	包丽丽	冯淑怡	师 岩
		吕 莹	吕丽艳	吕艳欣	朱坤杰	朱金玲	刘 丹
		刘 婷	刘文庆	刘秀财	刘伯阳	刘哲丞	刘雅楠
		刘楠楠	齐晓丹	衣同辉	许 凤	孙 权	孙 革
		孙 贺	孙石柱	孙晓杰	孙翠云	纪 亮	李 宇
		李 波	李 恋	李 涛	李 爽	李 雪	李永涛
		李光伟	李红梅	李志勇	李建蓉	李淑艳	李鹏辉
		李霄凌	杨旭芳	杨秀珍	肖 宇	肖 薇	吴艳敏
		吴 琦	何 军	邹淑君	沈 雷	宋 娟	张立平
		张明龙	张春庆	张春晶	张 威	张 鹏	张晓东
		张海燕	张淑丽	张善强	陈 萍	岳丽玲	金 莉
		郑立红	官 杰	郎蔚雅	赵占义	侯 鹏	姜 杨
		姜 颖	姚立杰	姚洪波	姚淑娟	都晓辉	夏春辉
		柴 英	钱丽丽	徐 晋	徐 晶	徐文弟	高 音
		高 涵	高恒宇	郭红艳	郭林娜	梅庆步	崔继文
		董 静	廉 洁	蔡文辉	潘洪明	薛茂强	薛俭雷

序

齐齐哈尔医学院组织编写的“全国高等院校医学实验教学规划教材”丛书（第1版）于2011年在科学出版社出版，获得了参编院校广大师生的欢迎和好评。按照《国家中长期教育改革和发展规划纲要（2010—2020年）》的要求，配合教育部“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材建设，全面推进现代医学实验教学的发展，加大对实验项目、实验条件、实验教学体系的改革力度，建立以能力培养为主线，分层次、多模块、互相衔接的实验教学体系，与理论教学既联系又相对独立，实现基础与前沿、经典与现代的有机结合是我们修订及编写本系列教材的初衷。

依照此要求修订及编写的基础医学实验系列教材，其编写指导思想是“符合人才培养需求，体现教育改革成果，确保教材质量，形式新颖创新”。配合教育部、卫计委提出的逐步建立“5+3”（五年医学院校本科教育加三年住院医师规划培训）为主体的临床医学人才培养体系。依照“三基、五性、三特定”原则，我们广泛听取了读者和同仁对上版教材的反馈意见，在继承和发扬原教材优点的基础上，修改不足之处。

本次系列实验教材修订，我们和多所医学院校合作，由长期工作在教学和科研一线的教师编写而成，他们分别来自齐齐哈尔医学院、哈尔滨医科大学、内蒙古医科大学、天津医科大学、大连医科大学、黑龙江中医药大学、厦门大学、绍兴大学、陕西中医学院、中国中医科学院、中央民族大学、牡丹江医学院、佳木斯大学、华中科技大学同济医学院、北华大学15所院校，力求做到体系创新、理念创新及编写精美。

本系列实验教材的实验内容在原有的基本实验操作及常用仪器使用、经典验证性实验、综合性实验和创新性实验，实验报告等基础上，增加了虚拟仿真实验。系列教材由上版7本，再版后增至8本，包括《人体解剖学实验》《医学微形态学实验》《医学机能实验学》《医学细胞生物学与遗传学实验》《医学免疫学与病原生物学实验》《生物化学与分子生物学实验》《医学物理学实验》和《医学化学实验》。

本系列教材读者对象以本科临床医学专业为主，兼顾预防、口腔、影像、检验、护理、药学、精神医学等专业需求，涵盖医学生基础医学全部的实验教学内容。

由于水平和时间的限制，难免存在疏漏，敬祈同仁和广大读者批评、指正。

李 涛 张淑丽 高 音

2015年6月

前言

生物化学与分子生物学是 21 世纪生命科学的领头学科,其理论与基本实验技术已广泛渗透并常规应用于生命学科各个领域。学习和掌握生物化学与分子生物学的实验技术不仅是医学生的必备能力,更是实施创新教育的重要手段。生物化学与分子生物学也是生命科学各学科的“共同语言”和“重要工具”,是联系基础医学和临床医学的重要纽带。近年来,分子生物学发展迅速,在遗传病、肿瘤、感染性疾病、心血管疾病等的诊断和治疗中作用越来越重要。2011 年 1 月编写了第 1 版《医学化学实验》,为了适应学科建设的发展,将生物化学与分子生物学实验从《医学化学实验》中分离出来,实验教材更名为《生物化学与分子生物学实验》(第 2 版),适用于医学院校的本科生使用,进行了较大修改和更新,增加了虚拟仿真实验内容,使之更实用。

本教材分为基础(验证性)实验、综合性实验、设计性实验和虚拟仿真实验四个部分。以层析技术、离心技术、电泳技术、盐析技术、蛋白质技术、PCR 技术等分子生物学技术作为基础实验,辅以教师的讲授和新技术的演示训练。综合性实验将给予学生比较连贯的实验技术训练。设计性实验旨在培养学生设计实验的能力,锻炼学生独立思考问题、解决问题的能力。虚拟实验贯彻新的学习理念:信息化环境下的自主学习理念、协作学习理念、终身学习理念,节约教学资源,确保人员及环境的安全,具有传统实验无法替代的优势。

本书共九章,其中王宏兰编写第一章、第二章;郭红艳编写第三章第一节;刘秀财编写第三章第二节;师岩编写第三章第三节;王丽萍编写第三章第四节;杨秀珍编写第三章第五节;齐晓丹编写第四章实验九、十、十四、十五、实验二十~实验二十二;吴琦编写第七章实验二;张春晶编写第四章实验十六~实验十九、第七章实验三;李淑艳编写第七章实验四、第八章;孙晓杰编写第四章实验十一~实验十三、第七章实验五;潘洪明编写第四章实验三~实验八;姜颖编写第五章、第六章;徐文弟编写第四章实验二十三~实验二十四;徐晶编写第四章实验一~实验二;高涵编写第七章第一节和实验一;衣同辉编写第九章;刘哲丞编写附录。

由于生物化学与分子生物学发展迅速,时间仓促,编者水平有限,本实验教材难免存在不足之处或错误,敬请同行专家及使用本教材者批评指正,以期逐步完善。

王宏兰 李淑艳 潘洪明

2015 年 6 月

目 录

第一章 绪论	1
第一节 概述	1
第二节 生物化学与分子生物学实验技术发展简史	1
第三节 实验的基本要求	3
第四节 实验记录和实验报告的撰写	8
第二章 实验基本操作技能	10
第一节 实验技能的内涵	10
第二节 常用玻璃仪器及器皿的使用、洗涤和干燥	11
第三节 常用仪器及设备的使用	13
第三章 生物化学基本理论	15
第一节 层析技术	15
第二节 离心技术	24
第三节 电泳技术	28
第四节 透析和浓缩	33
第五节 盐析技术	34
第四章 生物化学实验	35
实验一 蛋白质的盐析与透析	35
实验二 凝胶层析法分离蛋白质	37
实验三 酶作用的特异性和影响酶促反应速度的因素	38
实验四 琥珀酸脱氢酶的作用及丙二酸的竞争性抑制作用	41
实验五 酮体的生成和氧化	43
实验六 精氨酸酶在尿素生成中的作用	44
实验七 维生素 C 的性质及含量测定	46
实验八 血钙的测定	47
实验九 血清胆固醇总量的测定	49
实验十 双缩脲法测定蛋白质	52
实验十一 酵母蔗糖酶 K_m 值的测定	54
实验十二 饱食、饥饿和激素对小鼠肝糖原含量的影响	56
实验十三 转氨基作用与血清谷丙转氨酶活性的测定	57
实验十四 赖氏法测定血清丙氨酸氨基转移酶	60
实验十五 碘-淀粉比色法测定血清淀粉酶	62
实验十六 血清乳酸脱氢酶同工酶的电泳分离	64
实验十七 血清蛋白质的凝胶等电聚焦电泳	65
实验十八 血清蛋白质醋酸纤维素薄膜电泳定量测定	67
实验十九 聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳分离血清蛋白质	69

实验二十 血清甘油三酯的测定	72
实验二十一 GPO-PAP 法测定血清(浆)甘油三酯	74
实验二十二 蛋白质含量的测定(凯氏定氮法)	76
实验二十三 溴甲酚紫法测定血清白蛋白	78
实验二十四 胡萝卜素的柱层析分离	79
第五章 分子生物学基本理论	81
第一节 分子生物学实验室需要的仪器配置	81
第二节 分子生物学实验基本操作技术	84
第三节 基因操作概述	88
第六章 分子生物学基本实验	93
实验一 肝组织核酸的分离与鉴定	93
实验二 核酸的定量分析	94
实验三 大肠埃希菌感受态细胞的制备	96
实验四 DNA 的转化及阳性克隆的筛选	98
实验五 DNA 的限制性酶切反应	99
实验六 多聚酶链式反应(PCR)技术	101
实验七 RT-PCR 扩增目的基因	103
实验八 实时 PCR 检测乙型肝炎病毒(HBV)核酸	106
第七章 综合性实验	109
第一节 综合性实验概述	109
第二节 综合性实验	109
实验一 血清 γ -球蛋白的分离提纯	109
实验二 糖尿病诊断实验	111
实验三 基因组 DNA 的分离和含量测定	118
实验四 RNA 的分离和含量测定	125
实验五 质粒 DNA 的提取与鉴定	132
第八章 设计性实验	140
第一节 设计性实验概述	140
第二节 设计性实验	141
实验一 唾液淀粉酶最适 pH 的测定	141
实验二 RT-PCR	142
第九章 虚拟仿真实验	143
第一节 虚拟仿真实验概述	143
第二节 虚拟仿真实验	144
实验一 利用 Map viewer 查找人白介素 IL-18 基因序列、mRNA 序列和氨基酸序列	144
实验二 SLC11A1 蛋白跨膜结构域的预测	148
实验三 抗菌肽 LL37 的理化性质分析和二级结构预测	151
参考文献	155
附录	156

第一章 绪 论

第一节 概 述

欢迎同学们到生物化学与分子生物学实验室来！生物化学与分子生物学主要是从微观即分子的角度来研究生物现象，涉及物理、化学、数学、生物学等多学科的交叉。其在分子水平探讨生命的本质，即研究生物体的分子结构与功能、物质代谢与调节，是目前自然科学中进展最迅速、最具活力的前沿领域。生物化学与分子生物学实验课不仅给学生提供一个验证理论知识、学习这一领域中有关实验技术的机会，也给学生提供了一个当科学家的机会。

实验课是实现理论联系实践，培养学生创新能力、应用能力的重要方式。通过具体的实验操作，使学生掌握生物化学与分子生物学的基本实验方法和技能，锻炼学生的动手能力。通过实验训练学生观察、比较、记录、分析、判断、推理和综合等科学思维能力、独立工作能力和事实求是的科学作风。实验可以训练观察、记录、分析、判断、推理等能力；训练科学地解释实验结果，清晰而富有逻辑地将结果表达出来的能力。从学术意义上说，实验课是学生正式走上科学研究或其他工作岗位前的一种培训，而不仅仅是照着实验指导完成一系列操作、最后交份报告的课程。

第二节 生物化学与分子生物学实验技术发展简史

生物科学在 20 世纪有惊人的发展。其中，生物化学与分子生物学的进展尤为迅速，这样一门最具活力和生气的实验科学，在 21 世纪必将成为带头的学科，这主要有赖于生物化学与分子生物学实验技术的不断发展和完善。这里我们简单回顾一下生物化学实验技术的发展历史。

20 年代：微量分析技术导致了维生素、激素和辅酶等的发现。瑞典著名的化学家 T.Svedberg 奠基了“超离心技术”，1924 年制成了第一台 $5000 \times g$ ($5000 \sim 8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$) 相对离心力的超离心机(相对离心力“RCF”的单位可表示为“ $\times g$ ”), 开创了生化物质离心分离的先河，并准确测定了血红蛋白等复杂蛋白质的分子量，获得了 1926 年的诺贝尔化学奖。

30 年代：电子显微镜技术打开了微观世界，使我们能够看到细胞内的结构和生物大分子的内部结构。

40 年代：层析技术大发展，两位英国科学家 Martin 和 Synge 发明了分配色谱(层析)，他们获得了 1952 年的诺贝尔化学奖。由此，层析技术成为分离生化物质的关键技术。“电泳技术”是由瑞典的著名科学家 Tiselius 所奠基，从而开创了电泳技术的新时代，他因此获得了 1948 年的诺贝尔化学奖。

50 年代：自 1935 年 Schoenheimer 和 Rittenberg 首次将放射性同位素示踪用于碳水化合物及类脂物质的中间代谢的研究以后，“放射性同位素示踪技术”在 50 年代有了大的发展，为各种生物化学代谢过程的阐明起了决定性的作用。

60 年代：各种仪器分析方法用于生物化学研究，取得了很大的发展，如高效液相色谱(HPLC)技术、红外、紫外、圆二色等光谱技术、核磁共振(NMR)技术等。自 1958 年 Stem, Moore 和 Spackman 设计出氨基酸自动分析仪，大大加快了蛋白质的分析工作。1967 年 Edman 和 Begg 制成了多肽氨

基酸序列分析仪,到1973年 Moore 和 Stein 设计出氨基酸序列自动测定仪,又大大加快了对多肽一级结构的测定,十多年间氨基酸的自动测定工作得到了很大的发展和完善。1962年,美国科学家 Watson 和英国科学家 Crick 因为在1953年提出的 DNA 分子反向平行双螺旋模型而与英国科学家 Wilkins 分享了当年的诺贝尔生理医学奖,后者通过对 DNA 分子的 X-线衍射研究证实了 Watson 和 Crick 的 DNA 模型,他们的研究成果开创了生物科学的历史新纪元。在 X-线衍射技术方面,英国物理学家 Perutz 对血红蛋白的结构进行 X-线结构分析, Kendrew 测定了肌红蛋白的结构,成为研究生物大分子空间立体结构的先驱,他们同获 1962 年诺贝尔化学奖。

此外,在 60 年代,层析和电泳技术又有了重大的进展,在 1968 年~1972 年 Anfinsen 创建了亲和层析技术,开辟了层析技术的新领域。1969 年 Weber 应用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳技术测定了蛋白质的分子量,使电泳技术取得了重大进展。

70 年代:基因工程技术取得了突破性的进展,Arber, Smith 和 Nathans 三个小组发现并纯化了限制性内切酶,1972 年,美国斯坦福大学的 Berg 等人首次用限制性内切酶切割了 DNA 分子,并实现了 DNA 分子的重组。1973 年,又由美国斯坦福大学的 Cohen 等人第一次完成了 DNA 重组体的转化技术,这一年被定为基因工程的诞生年, Cohen 成为基因工程的创始人,从此,生物化学进入了一个新的大发展时期。与此同时,各种仪器分析手段进一步发展,制成了 DNA 序列测定仪、DNA 合成仪等。

80 至 90 年代:基因工程技术进入辉煌发展的时期,1980 年,英国剑桥大学的生物化学家 Sanger 和美国哈佛大学的 Gilbert 分别设计出两种测定 DNA 分子内核苷酸序列的方法,而与 Berg 共获诺贝尔化学奖,从此, DNA 序列分析法成为生物化学与分子生物学最重要的研究手段之一。他们 3 人在 DNA 重组和 RNA 结构研究方面都作出了杰出的贡献。1981 年由 Jorgenson 和 Lukacs 首先提出的高效毛细管电泳技术(HPCE),由于其高效、快速、经济,尤其适用于生物大分子的分析,因此受到生命科学、医学和化学等学科的科学工作者的极大重视,发展极为迅速,是生化实验技术和仪器分析领域的重大突破,意义深远。现今,由于 HPCE 技术的异军突起, HPLC 技术的发展重点已转到制备和下游技术。

1984 年德国科学家 Kohler、美国科学家 Milstein 和丹麦科学家 Jerne 由于发展了单克隆抗体技术,完善了极微量蛋白质的检测技术而共享了诺贝尔生理医学奖。

1985 年美国加利福尼亚州 Cetus 公司的 Mullis 等发明了 PCR 技术(Polymerase Chain Reaction)即聚合酶链式反应的 DNA 扩增技术,对于生物化学和分子生物学的研究工作具有划时代的意义,因而与第一个设计基因定点突变的 Smith 共享 1993 年的诺贝尔化学奖。除上述历史以外,还可以列出许多生物化学发展史上的重要成就,分述如下。

美国哈佛大学的 Folin 教授和中国的吴宪教授对生物化学常用的各种分析方法(血糖分析、蛋白质含量分析、氨基酸测定等)的建立作出了历史性的贡献。

美国化学家 Pauling 确认氢键在蛋白质结构中以及生物大分子间相互作用的重要性等,他获得了诺贝尔化学奖。

英籍德裔生物化学家 Krebs,在 1937 年发现了三羧酸循环,对细胞代谢及分子生物学的研究作出了重要贡献,他与美籍德裔生物化学家 Lipmann 共获 1953 年诺贝尔生理医学奖。英国生物化学家 Sanger 还于 1953 年确定了牛胰岛素中氨基酸的精确顺序而获得 1958 年的诺贝尔化学奖。

1959 年,美籍西班牙裔科学家 Uchoa 发现了细菌的多核苷酸磷酸化酶,研究并重建了将基因内的遗传信息通过 RNA 中间体翻译成蛋白质的过程。他和 Kornberg 分享了当年的诺贝尔生理医学奖,而后者的主要贡献在于实现了 DNA 分子在细菌细胞和试管内的复制。

美国生物化学家 Nirenberg 在破译遗传密码方面作出了重要贡献, Holly 阐明了酵母丙氨酸 tRNA 的核苷酸排列顺序, 后来证明所有 tRNA 的结构均相似。美籍印度裔生物化学家 Khorana 曾合成了精确结构的已知核酸分子, 并首次人工制成酵母基因。他们 3 人共获 1969 年诺贝尔生理医学奖。

法国生物学家 Lwoff、Jacob 和生物化学家 Monod 由于在病毒 DNA 和 mRNA 等方面出色的大量研究工作而共获 1965 年诺贝尔生理医学奖。

1988 年, 美国遗传学家 McClintock 由于在 20 世纪 50 年代提出并发现了可移动的遗传因子而获得诺贝尔生理医学奖。

法国生物学家 Lwoff、Jacob 和生物化学家 Monod 由于在病毒 DNA 和 mRNA 等方面出色的大量研究工作而共获 1965 年诺贝尔生理医学奖。

1988 年, 美国遗传学家 McClintock 由于在 20 世纪 50 年代提出并发现了可移动的遗传因子而获得诺贝尔生理医学奖。

1989 年, 美国科学家 Altman 和 Cech 由于发现某些 RNA 具有酶的功能(称为核酶)而共享诺贝尔化学奖。

1993 年, 美国科学家 Roberts 和 Sharp 由于在断裂基因方面的工作而荣获诺贝尔生理医学奖。

1994 年, 美国科学家 Gilman 和 Rodbell 由于发现了 G 蛋白在细胞内信息传导中的作用而分享诺贝尔生理医学奖。

1995 年, 美国科学家 Lewis、德国科学家 Nusslein-Volhard 和美国科学家 Wieschaus 由于在 20 世纪 40~70 年代先后独立鉴定了控制果蝇体节发育基因而共享诺贝尔生理医学奖。

我国生物化学界的先驱吴宪教授在 20 年代初由美国回国后, 在协和医科大学生化系与汪猷、张昌颖等人一道完成了蛋白质变性理论、血液生化检测和免疫化学等一系列有重大影响的研究。1965 年我国化学和生物化学家用化学方法在世界上首次人工合成了具有生物活性的结晶牛胰岛素, 1983 年又通过大协作完成了酵母丙氨酸转移核糖核酸的人工合成。近年来, 在酶学研究、蛋白质结构及生物膜的结构与功能等方面都有举世瞩目的研究成果。

由近百年来生物化学及其实验技术的发展史可以看出, 该学科的发展与实验技术的发展密切相关, 每一种新的生化物质的发现与研究都离不开实验技术, 实验技术每一次新的发明都大大推动了生物化学研究的进展, 因而对于每一位现代生物科学工作者, 尤其是生物化学工作者, 学习并掌握各种生物化学实验技术就是极为重要的。

第三节 实验的基本要求

一、实验课要求

(1) 学生必须按时参加实验课, 不得迟到早退, 迟到 15 分钟者, 不得参加本次实验。

(2) 实验前必须做好预习, 明确实验内容、目的、方法和步骤。

(3) 学生进入实验室必须衣着整洁, 不得穿拖鞋及背心进入实验室。严禁高声喧哗、吸烟、随地吐痰和吃零食, 不得随意动用与本实验无关设备。

(4) 实验预习准备就绪后, 经指导教师检查同意后, 方可进行实验。学生在实验中应严格遵守仪器设备操作规程, 认真观察和分析现象, 如实记录实验数据, 独自分析实验结果, 独立完成实验报告, 不得抄袭他人实验结果。

(5) 实验中要爱护仪器, 注意安全, 节约水、电、元件等消耗材料, 凡违章操作, 不听教师

指挥而造成事故,损坏仪器者,必须写出书面检查,并按有关规定赔偿损失。

(6) 实验中若发生仪器故障或其他事故,应立即切断电源、水源等,停止操作,并报告指导教师,待查明原因或排除故障后,方可继续进行实验。

(7) 实验完毕应及时关好电和水,并将仪器设备、工具等整理好放回原位,请指导教师检查同意签字后,方可离开实验室。

(8) 应按时完成实验报告,凡实验报告不符合要求者,必须重做。

二、实验室安全须知

(1) 实验前必须认真预习实验内容,明确本次实验目的,掌握实验原理,操作关键步骤及注意事项,写好实验预习报告。

(2) 实验时自觉遵守实验室纪律,保持室内安静。

(3) 实验过程中要听从教师指导,认真按照实验步骤和操作规程进行实验,注意观察实验过程中出现的现象和结果,并认真进行实验记录,对实验结果展开讨论,结果不良时,必须重做。实验完毕及时整理数据,按时上交实验报告。

(4) 实验中,将移液枪、吸量管、药品等用完后放回原处,实验台面、称量台、药品架、水池以及各种实验仪器内外都必须保持清洁整齐,严禁瓶盖及药勺混杂,切勿使药品(尤其是NaOH)洒落在天平和实验台面上,毛刷用后必须立即挂好,各种器皿不得丢弃在水池内。

(5) 多余的重要试剂和各种有污染的液体和凝胶,要按教师要求进行回收,如昂贵的Sephadex、Sephadex 凝胶,经溴化乙锭(EB)污染的琼脂糖凝胶及其电泳缓冲液等,用后必须及时回收,不得丢弃。

(6) 配制的试剂和实验过程中的样品。尤其是保存在冰箱和冷室中的样品,必须贴上标签、写上品名、浓度、姓名和日期。放在冰箱中的易挥发溶液和酸性溶液必须严密封口。

(7) 配制和使用洗液必须极为小心,强酸强碱必须倒入废液缸或冲稀后排放。

(8) 使用贵重精密仪器应严格遵守操作规程。使用分光光度计时不得将溶液洒在仪器内外和地面上。使用高速冷冻离心机等大型仪器必须经过考核。仪器发生故障应立即报告教师,未经许可不得自己随意检修。

(9) 对于如酒精、乙醚等易燃性有机溶剂,使用时严禁明火,远离火源,若需加热要用水浴加热,不可直接在水火上加热。

(10) 离开实验室必须关好门窗,切断电源、水源,以确保安全。

三、实验室安全规程

1. 进入实验室所遵循的“十要”和“十不要”。

十要:

(1) 要熟悉实验室内、外环境;

(2) 要熟悉常用有害物质的表示;

(3) 要保持实验台面的整洁;

(4) 要将长发盘起;

(5) 配制试剂要在实验台或实验架上进行;

(6) 要在毒气柜内操作一些有毒试剂的操作;

- (7) 要严格遵守实验室各项规定;
- (8) 要服从实验室老师的安排;
- (9) 要按指定地点存放实验污物;
- (10) 离开实验室要洗手。

十不要:

- (1) 未经批准不准进入实验室;
- (2) 单独一人不可作危险性实验;
- (3) 精神、身体状态不佳不要做实验;
- (4) 不可在实验室里打闹、奔跑;
- (5) 不可在实验室内进食;
- (6) 不可湿手摸电器;
- (7) 不可穿拖鞋、短裤进入实验室;
- (8) 未经批准不可将实验室物品带出实验室;
- (9) 不可俯视或嗅闻化学试剂;
- (10) 遇到紧急情况不可慌乱, 及时报告给老师。

2. 仪器使用规程

- (1) 在动用仪器设备前必须认真阅读仪器操作规程, 经指导教师同意后方可使用;
- (2) 使用仪器有疑问时应请教指导教师, 不可自行勉强操作;
- (3) 实验中要爱护仪器、设备, 严格按照操作规程进行操作;
- (4) 与当次实验无关的仪器及设备不得任意动手操作;
- (5) 精密、大型仪器、公用仪器与试剂只能在原处使用, 不得随意挪动;
- (6) 实验过程中要注意安全, 若仪器设备发生故障或损坏时, 要及时报告指导教师, 不可擅自拆卸和处理;

(7) 使用一切电器设备时, 要确实检查线路是否正常, 电压、电流与功率是否匹配, 要小心操作严防触电;

(8) 凡损坏仪器设备者, 应主动向指导教师说明原因并接受检查, 填写报损单, 根据情况按有关规定赔偿;

(9) 对违反操作规程或擅自动用其他设备造成损坏者, 由事故人作书面检查, 赔偿损失, 视认识程度和情节轻重, 酌情免予或给予处分;

(10) 仪器使用完毕后, 关闭各项程序和开关, 必要时填写使用记录。

3. 化学试剂使用规程

- (1) 取试剂前应两次核对标签, 以保证试剂或药品名称和浓度准确;
- (2) 从试剂瓶中取出的试剂, 不得再倒回原瓶中, 若取了过量试剂, 可分给其他同学或抛弃;
- (3) 勿将试剂瓶盖接口内部朝下放置而接触到其他表面, 以防污染;
- (4) 绝对不允许随意混合各种化学试剂和药品, 以免发生意外事故;
- (5) 不可擅自携带化学试剂和药品外离实验室;
- (6) 若需要用吸量管量取试剂时, 必须使用橡皮球或定量加液器吸取, 严禁用嘴直接吸取;
- (7) 使用剧毒、麻醉、致癌、放射药品等, 应严格按照规定的审批手续领取, 规范操作, 注意安全, 废液要妥善处理, 用剩的毒、麻药品应如数交还;
- (8) 一切能产生烟雾、毒性、刺激性气体、挥发性有毒物质的实验或腐蚀性气体试剂应放在

通风橱内,如实验室无此设备,则必须开窗通风并在远离火源的地方进行等。

4. 易燃易爆物品使用注意事项

- (1) 使用加热的电器(电炉、电热套、电热板)或燃气时要做到火着人在,人走火灭;
- (2) 点燃的火柴用后立即熄灭,不得乱扔;
- (3) 使用易燃试剂时要特别注意远离火源,加强空气流通,用毕立即盖紧瓶塞;
- (4) 严禁在有火源的地方倾倒易燃试剂;
- (5) 严禁把这些易燃试剂放在烧杯等广口器皿内直接在火上加热;
- (6) 钾、钠和白磷等暴露在空气中易燃烧,所以钾、钠应保存在煤油中,白磷则可保存在水中;
- (7) 酒精灯在添加酒精时,应将灯焰先行熄灭,酒精添加切勿过满;引燃酒精灯时,必须用火柴或纸片引燃之,切勿将酒精灯直接持至另一已燃着的灯焰上引燃;
- (8) 不纯的氢气遇火易爆炸,操作时必须严禁接近明火。在点燃前,必须先检查并确保纯度;
- (9) 银氨溶液不能留存,因久置后会变成氮化银也易爆炸;
- (10) 某些强氧化剂(如氯酸钾、硝酸钾、高锰酸钾等)或其混合物不能研磨,否则将引起爆炸。

5. 放射性实验室的安全防护规则

- (1) 进入实验室前一般应先通风;
- (2) 进入实验室必须穿戴防护衣帽、眼镜等;
- (3) 严格遵守放射源领用制度和专人专管制度;
- (4) 实验室内应明显划分活性区和非活性区,严禁在实验室内进食、饮水、吸烟和存放食物;
- (5) 所有操作要规范,放射性物质必须作好放射性标志;
- (6) 在进行强放射性操作前,一般都要作无放射性物质的模拟实验(又叫冷实验),待操作熟练之后才能进行放射性的实验;
- (7) 放射性废物必须同普通垃圾分别存放,并严格标记;
- (8) 实验中发生放射性事故时,应保持镇静,立即报告指导教师,在教师的指导下进行放射性去污;
- (9) 工作人员的皮肤暴露部位有伤口未愈时,一般要暂停止放射性操作;
- (10) 实验室要保持经常的清洁和整齐,要定期用剂量仪进行检测,发现沾污要及时去污、清洗;
- (11) 工作人员离开实验室前,必须仔细洗手,洗完后要经仪器测量,达到本底水平方可离开。

四、实验室废物处理

1. 实验室废物处理应遵循的原则

- (1) 集中回收,分类处理;
- (2) 降低毒性或腐蚀性,减少污染,达标排放;
- (3) 尽量重新回收和再利用。

2. 实验室废气排放的主要办法

物理处理方法:①吸附法;②溶解法;③回流法;④袋装法;⑤稀释法;⑥掩埋法等。

化学处理方法:①燃烧法;②沉淀法;③中和法;④还原法;⑤生物法等。

3. 实验室废液处理原则及办法

- (1) 实验室废液处理原则:分类存放;严格标示;分类处理;严禁直接注入下水道。

(2) 实验室废液标示的内容: ①废弃液体名称; ②废弃液体浓度; ③废弃时间; ④废弃液体组成成分; ⑤废弃人签名。

(3) 实验室废液处理常用方法: ①稀释法; ②中和法; ③沉淀法; ④水解法; ⑤离子交换法; ⑥焚烧法; ⑦吸附法; ⑧氧化法; ⑨蒸馏法; ⑩萃取法等。

4. 实验废弃动物的处理原则

- (1) 死、活动物分别放置;
- (2) 死亡动物确保死亡;
- (3) 统一放置, 统一处理;
- (4) 不许带出实验室;
- (5) 严禁出售和食用。

五、实验室常见事故处理

1. 实验中意外事故处理原则

- (1) 沉着冷静不慌乱;
- (2) 紧急处理并疏散;
- (3) 报告老师或报警;
- (4) 量力而行保安全。

2. 玻璃仪器伤害的处理

处理原则及方法: 清理出破碎玻璃; 处理伤口: 轻者药水涂抹或消毒包扎; 重者送医院处理。

3. 烫伤的处理

- (1) 立即使伤处降温;
- (2) 伤处皮肤未破时可涂擦饱和 NaHCO_3 溶液或用 NaHCO_3 粉调成糊状敷于伤处, 也可涂抹獾油或烫伤膏;

(3) 如果伤处皮肤已破, 可涂些紫药水或 5% 的苦味酸溶液涂抹伤口;

(4) 严重者送医院救治。

4. 腐蚀剂致伤的处理

- (1) 立即先用大量清水冲洗;
- (2) 再用具有中和作用的溶液冲洗;
- (3) 再用清水冲洗;
- (4) 可涂少许油膏保护局部皮肤;
- (5) 严重者送医院诊治。

5. 触电的处理

- (1) 立即切断电源;
- (2) 使触电者尽快脱离电源;
- (3) 保证呼吸通畅;
- (4) 必要时进行人工呼吸;
- (5) 严重时应立即送医院抢救。

6. 火灾的处理

- (1) 火灾的紧急处理: ①迅速报警; ②转移易燃易爆物品; ③相应手段灭火; ④安全疏散。

(2) 以下物质燃烧后不宜使用水进行灭火：①汽油、乙醚、甲苯等有机溶剂；②酒精及其他可溶于水的易燃液体；③电器设备所引起的火灾；④活泼金属(如钾、钠等)及磷化物与水接触易引发火灾。

(3) 以下物质燃烧后宜使用水进行灭火：①纸张；②棉花；③纺织品；④木材；⑤易燃气体等。

(4) 衣服着火后应注意的事项：①衣服被燃着时，切忌带火奔走；②未及皮肤的衣服着火时，可赶快脱下衣服压灭火焰，或用专用防火布覆盖着火处；③伤及皮肤时，可以其他衣物等蘸上水包裹身体，或躺在地上滚动以灭火。

7. 实验动物咬伤的处理

(1) 立即消毒伤口；

(2) 必要时包扎伤口；

(3) 必要时可注射疫苗；

(4) 严重时送医院处理。

第四节 实验记录和实验报告的撰写

实验是在理论指导下的科学实践，目的在于经过实践掌握科学观察的基本方法和技能，培养学生科学思维、分析判断和解决实际问题的能力。也是培养探求真知、尊重科学事实和真理的学风，培养科学态度的重要环节。

一、实验记录

详细、准确、如实地做好实验记录是极为重要的，记录如果有误，会导致整个实验失败，这也是培养学生实验能力和严谨的科学作风的一个重要方面。

(1) 每位同学必须准备一个实验记录本，实验前认真预习实验，看懂实验原理和操作方法，在记录本上写好实验预习报告，包括简要的实验流程图和数据记录表格等。

(2) 记录本上要编好页数，不得撕缺和涂改，写错时可以划去重写。不得用铅笔记录，只能用钢笔和圆珠笔。

(3) 实验中应及时准确地记录所观察到的现象和测量的数据，条理清楚，字迹端正，切不可潦草以致日后无法辨认。实验记录必须公正客观，不可夹杂主观因素。

(4) 实验中要记录的各种数据，都应事先在记录本上设计好各种记录格式和表格，以免实验中由于忙乱而遗漏测量和记录，造成不可挽回的损失。

(5) 实验记录要注意有效数字，如吸光度值应为“0.050”，而不能记成“0.05”。每个结果都要尽可能重复观测2次以上，即使观测的数据相同或偏差很大，也都应如实记录，不得涂改。

(6) 实验中要详细记录实验条件，如使用的仪器型号、编号、生产厂家等；生物材料的来源、形态特征、健康状况、选用的组织及其重量等；试剂的规格、化学式、分子质量、试剂的浓度等，都应记录清楚。

二、实验报告

实验报告是实验的总结和汇报，通过实验报告的写作可以分析总结实验的经验，学会处理各种实验数据的方法，加深对有关生物化学与分子生物学原理和实验技术的理解和掌握，同时也是学习撰写科学研究论文的过程。实验报告的格式应为：实验目的、实验原理、仪器和试剂、

实验步骤、数据处理和结果讨论。

每个实验报告都要按照上述要求来写，实验报告的写作水平也是衡量学生实验成绩的一个重要方面。实验报告必须独立完成，严禁抄袭。实验报告使用的语言要简明清楚，抓住关键，各种实验数据都要尽可能整理成表格(三线表)并作图表示之，以便比较，一目了然。通常利用 Excel 或 SPSS 软件作图，每个图都要有明显的标题，坐标轴的名称要清楚完整，要注明合适的单位。

实验结果和讨论是实验报告书写的重中之重，一定要充分，尽可能多查阅一些有关的文献和教科书，充分运用已学过的知识，进行深入的探讨，勇于提出自己独到的分析和见解，并欢迎对实验提出改进意见。

三、实验结果的处理与误差

(一) 实验误差

1. 概念 误差(error)一般指系统误差，即一个量在测量、计算或观察过程中由于某些错误或通常由于某些不可控制因素的影响，而造成偏离真值的数量，又称变异(variance)或差异(discrepancy)，亦即测定结果与真值的不符合性。

2. 分类 ①系统误差；②随机误差；③过失误差。

3. 表示方法及计算方法

(二) 准确度、精确度和精密度

1. 准确度 准确度是指在一定测量条件下，观测值及其函数的估值与其真值的偏离程度。

2. 精确度 精确度是指指定数字时的准确性，即表达数字时所带的有效位数。

3. 精密度 精密度是指一组测量值之间相互吻合的程度，即重复测量之间相互接近的程度。

(三) 有效数字

1. 概念 有效数字也称有效位数，用来表示测量值或基于测量值的计算结果的精确度。它由确定数字和末位不确定数字组成。

2. 位数确定方法及原则

(1) 以“0”开头的小数，开头的“0”都不记为有效数字；

(2) 小数末位的“0”都记为有效数字；

(3) 没有小数点的数字，末尾的“0”无法确定是否为有效数字，一般用科学计数法反映其有效数字。

3. 运算原则

(1) 做加减计算时，以小数点的后位数最少的数字为准。

(2) 乘除法计算时，有效数字的位数取决于有效数字位数最少的数字。

(3) 在计算平均值时，求四个或四个以上准确度接近的近似值的平均值时，则平均值的有效位数，可较原数据的有效位数多一位。

(4) 有效数字的规则不适用于确切数。

4. 数的修约原则

(1) 数的修约一般遵守四舍六入五留双的规则。

(2) 在做多步计算时，应保留中间步骤的非有效数字，以减小最后结果的误差。

(王宏兰)