

生物科学
生物技术
系 列

普通高等教育“十三五”规划教材

生物技术 综合实验教程

第2版

梁雪莲 · 主编 张雅君 · 副主编

梁 红 · 主审



化学工业出版社

普通高等教育“十三五”规划教材

生物技术综合实验教程

第2版

梁雪莲 主 编
张雅君 副主编
梁 红 主 审



化学工业出版社

· 北 京 ·

本书是一本高校生物技术实验的教学指导用书,内容包括导言,植物细胞工程实验技术,微生物工程实验技术,蛋白质、核酸的提取与分离,层析、色谱及电泳技术等基因工程方面的主要实验技术方法。本书综合了本专业多个学科涉及的研究内容,突出实验的综合性、现代性,并与实际应用紧密结合,力求针对本科院校应用型、复合型人才培养的要求,做到理论联系实际、重点突出、可操作性强。

图书在版编目(CIP)数据

生物技术综合实验教程/梁雪莲主编. —2版. —北京:
化学工业出版社, 2016.5
普通高等教育“十三五”规划教材
ISBN 978-7-122-26637-8

I. ①生… II. ①梁… III. ①生物工程-实验-高等
学校-教材 IV. ①Q81-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 062663 号

责任编辑: 赵玉清
责任校对: 王素芹

文字编辑: 何 芳
装帧设计: 关 飞

出版发行: 化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)
印 装: 三河市延风印装有限公司
787mm×1092mm 1/16 印张 13 字数 328 千字 2016 年 7 月北京第 2 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899
网 址: <http://www.cip.com.cn>
凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 28.00 元

版权所有 违者必究

编写人员

主 编 梁雪莲

副 主 编 张雅君

其他参编人员 周玲艳 冯 飞 张伟丽 王伟权

主 审 梁 红

前言

现代生物技术以分子生物学为基础,囊括了微生物学、植物生物学、动物生物学、细胞生物学、生物化学、遗传学等学科的技术成就,是当前生命科学中最活跃和最重要的技术领域。现代生物技术始于 20 世纪 70 年代的 DNA 重组技术,其迅猛发展使传统生物技术发生了日新月异的变化,在改进原有的技术方法的同时,也催生了一大批新的技术方法、技术产品,并扩展了其应用领域。生物技术的发展,使人们在了解生命的奥秘和生命现象的本质、认识生物体的结构、功能与生命活动规律等方面有了高效精深的技术手段和前所未有的发展机遇。生物技术在工业、农业、医药卫生和商业服务的应用,孕育并催生了生物技术产业,已成为 21 世纪的高新技术产业和前景广阔的朝阳产业。

近 30 年来,生物技术取得了举世瞩目的成就,继人类基因组计划之后,一批重要的植物、动物和微生物的基因组测序工作相继完成,生命科学进入了后基因组时代,各种组学、生物信息学和系统生物学已成为关注的热点和未来科学发展的新增长点。随着生物技术的发展,原有的研究方法不断改进,新的技术、方法和仪器设备不断涌现,但最基本的生物技术研究方法和仪器设备仍然在大部分实验室中得以运用,具有很好的稳定性、可操作性和可延伸性,这就是我们编写本书的初衷和选取实验的原则。本书各章节除了介绍主要技术方法,还包括实际应用的案例,涉及细胞工程、微生物工程、蛋白质和核酸的提取与分离、聚合酶链反应及分子杂交等基因工程方面的主要实验内容,力求针对本科院校应用型、复合型人才培养的要求,做到理论联系实际、重点突出、可操作性强。

本书在 2010 年第一版的基础上,主要更新了部分仪器设备的使用说明,更换了部分实验项目(如可溶性糖的硅胶 G 薄层层析),增加了蛋白和酶的测定以及酵母基因工程的内容,并做了部分文字更正。

本书的各章节分别由以下人员完成:第一章由梁红、张雅君编写,第二章由周玲艳编写,第三章由冯飞编写,第四章由梁雪莲、张雅君编写,第五章由张伟丽、梁雪莲和王伟权编写,第六章由梁红、张伟丽和梁雪莲编写,第七章由梁红、王伟权编写,第八章由梁雪莲、梁红、张伟丽和冯飞编写,最后由梁红教授主审,由张雅君、梁雪莲负责统稿。在本书的编写过程中得到广东省教育厅精品资源共享课项目和作者所在单位仲恺农业工程学院专业综合改革项目的支持,也是学院多位老师多年来实践教学和科学研究的经验总结。我们还要衷心感谢化学工业出版社编辑的辛勤劳动,使本书得以顺利出版。

由于现代生物技术的蓬勃发展、内容繁多,我们虽然一直希望编写一本能基本反映现代生物技术核心内容、方便实验教学又符合教学要求的实用性教材,但由于水平所限,仍难免有疏漏和错误之处,希望同行和读者朋友批评指正。

编者

2015 年 12 月

目 录

第一章 导 言 /1

一、生物技术主要概念	1
二、生物技术实验室的安全性	1
三、生物技术实验基本要求	3
四、生物技术常用实验仪器的使用	5
参考文献	12

第二章 植物细胞工程实验技术 /13

实验一 培养基的配制、消毒与接种	13
实验二 植物愈伤组织诱导及分化培养	20
实验三 花药培养	25
实验四 细胞悬浮培养	29
实验五 原生质体的游离、培养与融合	32
实验六 植物细胞的生长计量技术	38
实验七 植物快速无性繁殖	41
实验八 细胞大规模培养及人工种子制备	46
实验九 农杆菌介导的植物遗传转化	50
参考文献	53

第三章 微生物工程实验技术 /54

实验一 培养基的配制及灭菌	54
实验二 菌种的分离纯化	61
实验三 微生物形态的观察和革兰氏染色法	63
实验四 稀释平板计数法和细菌生长曲线的测定	66
实验五 发酵罐的构造与实罐灭菌	69
实验六 谷氨酸发酵工程系列实验	73
I 谷氨酸菌种的制备	74
II 谷氨酸的中糖发酵及控制	76

III 谷氨酸发酵过程还原糖含量的测定	78
IV 谷氨酸含量的测定与等电点回收	79
实验七 啤酒发酵工程系列实验	80
I 协定法糖化试验	82
II 啤酒酵母纯种分离	83
III 啤酒酵母的计数	84
IV 啤酒酵母的质量检查	86
V 啤酒酵母的扩大培养	88
VI 麦芽汁的制备	89
VII 糖度的测定	91
VIII 啤酒主发酵	93
IX 酸度和 pH 值的测定	94
X 酒精度的测定及原麦芽汁浓度的计算	95
XI 色度的测定	98
XII 苦味质的测定	99
XIII 啤酒质量品评	100
参考文献	103

第四章 蛋白质、核酸的提取与分离 / 104

实验一 溶菌酶的提纯与结晶	104
实验二 果实菠萝蛋白酶的活力测定	106
实验三 酪蛋白的分离提取	107
实验四 双缩脲法定量测定酪蛋白的含量	110
实验五 植物基因组 DNA 提取	111
实验六 质粒 DNA 的分离提取	113
实验七 植物 RNA 提取	115
参考文献	117

第五章 层析、色谱及电泳技术 / 118

实验一 可溶性糖的硅胶 G 薄层层析	118
实验二 迷迭香挥发油的气相色谱定量分析	121
实验三 反相高效液相色谱法测定饮料中的苯甲酸与山梨酸	123
实验四 DNA 琼脂糖凝胶电泳	124
实验五 SDS-PAGE 测定蛋白质的相对分子质量	126
实验六 非同位素银染 DNA 测序技术	131
实验七 纤维素薄膜电泳分离血清蛋白及永久胶片制作	139
参考文献	143

第六章 聚合酶链反应 /144

实验一 常规 PCR 法扩增目的潮霉素基因片段	144
实验二 PCR 法制备潮霉素基因探针	147
实验三 反转录 PCR	149
实验四 随机引物 PCR	152
参考文献	154

第七章 分子杂交技术 /155

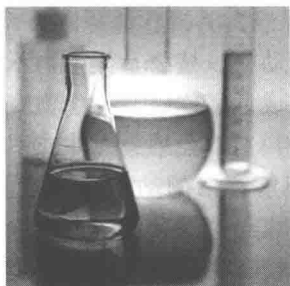
实验一 核酸分子杂交技术	156
实验二 Western 杂交	158
参考文献	161

第八章 基因重组及基因文库构建 /162

实验一 DNA 酶切、片段回收与重组连接	162
实验二 重组体 DNA 遗传转化与克隆筛选	165
实验三 真核生物基因组文库的构建	168
实验四 cDNA 文库的构建	172
实验五 真菌 <i>Hog1</i> 及 <i>Pbs2</i> 基因功能验证	180
参考文献	185

附录 /186

附录一 常用激素的溶解	186
附录二 常用消毒剂的使用和效果	186
附录三 植物组织培养常用的培养基配方	186
附录四 Kao 和 Minchayluk 的 KM8P 培养基	187
附录五 细胞筛孔径 (μm) 与目换算表	188
附录六 GUS 染色方法	188
附录七 主要溶液(母液)及缓冲液配制	189
附录八 常见市售酸碱的浓度	191
附录九 基因组文库载体的种类和特征	191
附录十 生命科学常用实验仪器名称中英文对照	191
附录十一 几种主要的限制性核酸内切酶及其作用位点	193
附录十二 几种主要的质粒载体的酶切位点及其选择标记	194
附录十三 实验报告参考式样	197
附录十四 有关警告标志图	200



第一章 导言

一、生物技术主要概念

生物技术 (biotechnology) 是研究生物大分子 (包括核酸、蛋白质、多糖) 结构、功能及其相互作用的重要手段。现代生物技术是所有自然科学领域中涵盖范围最广的学科之一。它以包括分子生物学、细胞生物学、微生物学、免疫生物学、人体生理学、动物生理学、植物生理学、微生物生理学、生物化学、生物物理学、遗传学等几乎所有生物科学的次级学科为支撑, 又结合了诸如化学、化学工程学、数学、微电子技术、计算机科学、信息学等生物学领域之外的尖端基础学科, 从而形成一门多学科互相渗透的综合性学科。其中又以生命科学领域的重大理论和技术的突破为基础。

随着科学的发展、不同学科之间相互渗透和新技术、新方法的应用, 生物技术也越来越地借助数理化技术、信息技术及计算机技术, 推进其自身的科技进步。在科学的层面上, 它是生物科学及其相关学科与工程技术的应用和推广, 已成为工、农、医及生命科学研究强大的分析手段和生物技术产业的重要支柱。在技术层面上, 它是遗传学技术、生物化学技术、化学分析技术、物理分析技术、信息技术及计算机技术的集成。现代生物技术已越来越趋向于精确化、微量化和自动化, 生物技术产业正在成为 21 世纪领头的高新技术产业。

二、生物技术实验室的安全性

生物技术实验室的仪器设备种类繁多、精密、贵重, 其使用不当可能造成安全隐患和经济损失; 生物技术实验所使用的试剂纯度要求也越来越高, 且多数对人、畜有一定毒性并对环境造成一定危害, 因此对实验室的环境质量、设备维护、用品用具的清洁、药品试剂的使用、废弃物品和废液的回收处理、实验室安全防护以及实验操作安全等方面也提出了越来越严格的要求。

1. 生物技术实验室的安全要求

标准的生物技术实验室应包括实验仪器室、培养室、工作室、饲养 (栽培) 室、暗室、洗涤消毒室及相应的仪器设备及设施, 并装备有控温系统、通风系统、水净化系统及废物 (废液) 回收装置。为了保证实验室的正常运转和安全操作, 对实验室安全的维护都有着严

格的规定。

(1) 生物安全 生物安全是指实验室中所使用的生物材料或实验动物、植物及微生物不应该对实验室人员、实验室内的其他生物和实验室以外的生态环境造成危害或破坏。生物安全包括以下几个方面的要求：一是所使用的生物（包括动植物和微生物）不会感染人体或不会致病，如非致病性的大肠杆菌、经改造后的病毒、在自然条件下不能存活的动植物细胞；二是实验生物的释放不会造成生态危害，或在自然条件下不能存活，或没有生存竞争力，如用营养缺陷型的微生物、有特殊营养要求的细胞株系；三是对有害生物有足够的防护措施使之不会对外释放或对外造成危害，如灭活、隔离、消毒等处理。

(2) 设施安全 设施安全是指实验室的仪器设备有足够的安全防护措施，实验室及实验室内仪器设备能够安全使用，及对实验工作人员的充分安全防护。包括安全操作规程，高压、高温、高速运转设备隔离，有毒有害试剂安全存放设施及消防报警装置等，但最重要的是对实验室内的工作人员的安全防护。实验室的工作台面或桌面应有防腐和防火性能，并注意经常清洁。要求实验室工作人员定期检查安全设施，及时排除仪器的故障，消除隐患。

(3) 药品试剂安全存放 存放和配制药剂试剂的用房必须有通风和抽气装置。所有的实验药品和试剂均必须有明确的标签和进库日期。有毒或剧毒药品单独（室、柜）存放，专人管理，并有防止挥发、散发和防盗的设备；溶剂类药品试剂须专柜存放，最好放于木制柜或木质架上；分子生物学相关的有机试剂（如 DEPC、GoldView）、酶、核酸类一般应放于冰箱或低温冰箱中；易燃易爆物品应单室存放或单独铁柜存放；腐蚀性药品试剂一般不能放于铁柜或铁架上。对于库存药品试剂特别是存放于冰箱或低温冰箱中的蛋白质类、核酸类和维生素类等试剂应定期清理。

(4) 废物（废液）回收处理 废弃物包括固体废物和废液，大多对人、畜有毒、有害并可能对环境造成污染，必须妥善处理。一是对有毒有害的固体废物专袋收集，运送至特定地点专门处理或深埋；二是对废液分为可燃物和非可燃物用专门的容器收集，密封后运送至特定地点或部门处理；三是对生物类废弃物必须灭活（如高温高压处理）后再运出埋藏；四是有必要和足够的防护设施和措施避免实验室工作人员受到实验生物、实验试剂或实验仪器的伤害。

2. 急救措施

(1) 毒物中毒 生物技术实验室的毒物中毒一般通过三个途径：呼吸系统中毒，消化道中毒，通过皮肤黏膜吸收引发中毒。发生中毒事件应该及时联系救护车送医院处理，在救护车到达之前，可采取一些急救措施。呼吸系统中毒主要是因为吸入了大量的有机溶剂蒸气如乙醚、丙酮、氯仿等。其急救措施是使中毒者迅速离开急性呼吸系统中毒现场，移到通风良好的地方，呼吸新鲜空气。如有休克、虚脱或心肺功能不全，必须先做抗休克处理，如人工呼吸、给予氧气、兴奋剂（如浓茶、咖啡）等。消化道中毒主要是误食或手上沾染毒物在进食时进入消化系统引起的中毒，如汞盐、氰化物等。其急救措施是立即进行洗胃、呕吐。用3%~5%小苏打溶液或1:5000高锰酸钾溶液洗胃，洗胃时要大量地喝，边喝边使之呕吐，最简单的催吐办法是用手指或筷子压舌根，或给中毒者喝少量（15~25mL）1%硫酸铜或硫酸锌溶液（催吐剂），使之迅速将毒物吐出。洗胃要反复进行多次，直至吐出物中基本无毒物为止。再服解毒剂，一般解毒剂有鸡蛋清、牛奶、淀粉糊、橘子汁等。另外有些特殊解毒剂专对某种中毒而用，如磷中毒时用硫酸铜，钡中毒时用硫酸钠，氰化物中毒时用硫代硫酸钠等。通过皮肤黏膜吸收引发的中毒指皮肤、眼、鼻、咽喉受毒物的侵害而引发的中毒。其

急救措施是立即用大量自来水冲洗,然后送医院请各专科医生处理。

(2) 烫伤和火伤 由于灼热的液体、固体、气体,电热,化学物质或反射线所引起的损伤。其救护措施是,在医生到达之前,用 15℃ 左右的冷却水连续冷却或浸泡,以迅速降温,避免深度烧伤。若起水疱,不宜挑破,用纱布包扎后送医院治疗。轻度烫伤采用氯己定或硫柳汞溶液进行消毒,然后在伤处涂上烫伤药。发生大面积烧伤时,应立刻送医院治疗,在送医院前,主要防止感染和休克,可用消毒纱布轻轻包扎好,给伤者保暖和供氧,必要时注射吗啡止痛。

(3) 冻伤 把冻伤部位放入 40℃ (不要超过此温度) 的热水中浸 30min 左右。待恢复到正常温度后,需把冻伤部位抬高,不包扎。也可饮适量酒精饮料暖和身体。

(4) 炸伤 由于剧烈的化学反应或做加压减压实验时容器耐压不够引发爆炸所造成的损伤。其急救措施基本同烧伤处理。但炸伤后伤口往往大量出血,应立即将伤口上部扎紧,防止流血过多。如发生昏迷、休克等,应进行人工呼吸、给氧,并送医院治疗。

(5) 电击伤 急救时首先使触电者脱离电源,为此可拉下电闸或用木棍将触电者从电源上拨开。断开电源后,检查伤员呼吸和心跳情况,若呼吸停止,立即进行人工呼吸。对心跳亦停止者要同时进行心脏挤压。待其恢复呼吸后,在触电灼伤处擦涂酒精溶液,或用消毒纱布包扎防止感染,然后送医院治疗。

(6) 割伤 首先要止血(先除去伤口内的玻璃碎片),一般可直接压迫损伤部位进行止血。用双氧水(3%)将伤口周围擦干净,再涂碘酒、紫药水,撒上消炎粉后包扎。若情况严重,做上述简单处理后,立即送医治疗。

三、生物技术实验基本要求

1. 工具、用具的洗涤与存放

(1) 一般洗涤 一般洗涤的洗涤剂可用洗衣粉、洗洁精、漂白粉和肥皂等。对于织物可经洗涤剂泡洗后用自来水冲净,晾干备用,或根据需要消毒后使用。对于玻璃器具,可用洗涤剂刷洗后经自来水冲净,再用蒸馏水或去离子水涮洗 3 次,烘干备用。对于塑料和橡胶制品,用洗涤剂刷洗后经自来水冲洗干净,蒸馏水或去离子水涮洗 3 次,再用 70% 乙醇涮洗一次,50~60℃ 烘干备用。对于装核酸、蛋白质和酶制剂的容器或盛具,一般要求灭菌后再使用,或做特殊的处理。

(2) 严格洗涤 严格洗涤的器具主要用于装高纯度的溶液、酶试剂、蛋白质、核酸样品和其他有生物活性的试剂。操作时要求戴手套和穿着工作服,洗涤后的器具用专柜或专架放置。洗涤程序如下:丙酮—热水冲洗—热洗涤液浸泡—自来水涮洗—热水冲洗 3~5 次—倒挂晾干—重蒸水或经蒸馏的去离子水冲洗 2~3 次—高温烘干或灭菌后备用。

刷洗不掉的污垢或极微量杂质经过酸洗液的强氧化作用可被除掉。酸洗液对玻璃和塑料器皿无腐蚀作用,去污十分有效。洗液是由重铬酸钾、浓硫酸和水按一定比例配制而成的,浸泡时,器皿要充满洗液。常用的洗液配方见附录。

(3) 与 RNA 有关的器具的处理

① 配制 DEPC 水:吸出 1mL DEPC 放在 1000mL 双蒸水中配成 0.1% DEPC 水,放在 1000mL 烧杯中磁力搅拌 4h 备用。

② 塑料制品(包括枪头、EP 管、匀浆管等):先将 DEPC 水从容量瓶中倒入瓷缸中,将塑料制品逐个浸泡其中,其中小枪头需要吸管打入 DEPC 水,过夜,然后高压,再烤干备用,实验前将枪头等放入吸头台,再高压一次(EP 管)。

③ 玻璃制品：泡酸过夜，冲洗干净，蒙上锡纸烤干备用（DEPC 水泡，即洗净后先泡 0.1% DEPC 过夜，再烤干）。

④ 匀浆器（包括剪刀、镊子）：先洗净后，再高压（不需要泡 DEPC 水）。

2. 试剂的配制

分子生物学试剂的配制要求用称量纸在电子天平或分析天平上称量，每一药品单用一药勺，每种溶剂或液体单用一个量具。分子生物学实验所用的药品试剂均要求达到分析纯（AR）或以上等级，色谱试剂要求达到色谱纯或 HPLC 专用试剂所需纯度，溶解试剂的水要用重蒸水或蒸馏后的去离子水。配制试剂时要戴上手套，必要时还需戴上口罩。

（1）生物试剂配制的一般步骤

① 配制前计算好各种药品和溶剂的用量，列出清单。

② 先加入所需一半或 2/3 体积的溶剂，按清单依次称量（或吸量）加入药品（每样药品完全溶解后再加下一种），每加完一种药品做好标记，最后定容至所需体积。注意两种易发生沉淀反应或挥发气体的药品不要加入。

③ 贴好标签，包括试剂名称、浓度、配制日期、注意事项（如易燃、挥发、腐蚀性、避光、低温等）。注明使用者或用途，置于冰箱或低温冰箱中备用。

④ 试剂配好后最好尽快使用，久藏可能会失效。因此，一次配药不要过量，最好能做到随配随用，以免浪费。

（2）实验操作 每一小组配一套试剂，如植物 DNA 提取试剂、植物 RNA 提取试剂、质粒 DNA 提取试剂、琼脂糖电泳试剂、LB 培养基。

（3）实验过程记录 包括试剂配制清单、实验步骤、各实验环节的过程记录、实验数据原始记录。

3. 生物技术实验的基本要求

（1）预习要求 做好预习报告，有助于学生实验前对实验的内容、目的要求、基本原理、具体操作方法、数据记录格式及实验要点等有一定了解，减少盲目性，增强教学效果。实验指导教师应检查学生的预习情况，进行必要的提问，解答疑难。预习报告应包括实验原理、详细的实验操作步骤及做好实验的注意事项，并拟定好实验数据表格等。

（2）实验记录要求 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，有可能导致整个实验的失败或实验报告可信度低。如实记录实验数据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 每位同学须准备一个实验记录本，记录本上要编好页数，不得撕页和涂抹，写错时可以划去重写。不得用铅笔记录，只能用钢笔或圆珠笔记录。记录本的左半页用作计算和草稿用，右半页用作实验记录。同组的两位同学合做同一实验时，两人必须都有相同、完整的记录。

② 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，以致以后无法辨认。实验记录必须公正客观，不可夹杂主观因素。

③ 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。

④ 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两次以上，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。

⑤ 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、分子量、试剂的浓度等都应记录清楚。两人一组的实验，必须每人都做记录。

4. 实验报告书写要求及参考格式

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和问题，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。具体实验报告参照附录格式。

(1) 实验报告的格式 综合性大实验即设计性（探索性）实验的论文书写与一般的实验报告有所不同，要求按照正式论文格式。具体格式如下。

① 作者与班级：请用页眉的形式表示，例如生物技术 051 陈××第×组×号。

② 摘要：按照目的、方法、结果、结论四个部分进行表述，要求有重要的数据，能概括全文的主要内容与观点，字数以不超过 350 字为宜。

③ 前言：在实验报告中不用写出前言字样，主要是要有这部分内容，简要说明有关领域的研究概况和本实验项目的立论与宗旨。

④ 材料与方法：包括实验材料、药品配制、仪器、实验过程、数据处理等。

⑤ 结果与分析：用文字及图表表示。

⑥ 讨论与结论：根据结果并结合有关理论和文献进行分析。

一份满意的实验报告必须具备准确、客观、简洁、明了几个特点。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。为了使实验结果能够重复，必须详细记录实验现象的所有细节，例如，若实验中生成沉淀，那么沉淀的真实颜色是白色、淡黄色或是其他？沉淀的量是多还是少，是胶状还是颗粒状？什么时候形成沉淀，立即生成还是缓慢生成？热时生成还是冷却时生成？在科学研究中，仔细地观察，特别注意那些未料想到的实验现象是十分重要的，这些观察常常引起意外的发现，报告并注意分析实验中的真实发现，对学生将是非常重要的科学研究训练。

(2) 实验报告的内容 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并作图表示，以便比较，一目了然，并尽可能简明，对于实验结果的照片要详细注明处理和对照，表明哪个是自己的实验结果，并且要进行必要的文字说明。

(3) 实验讨论 实验结果的讨论要充分，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和分子生物学原理，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。

四、生物技术常用实验仪器的使用

1. 生物技术实验常用器材

- ① 灭菌消毒器材
- ② 真空无菌操作箱
- ③ 超净工作台
- ④ 生物洁净安全柜
- ⑤ 薄层色谱仪及配套产品
- ⑥ 层析柱/层析仪/层析实验冷柜
- ⑦ 移液器
- ⑧ 制冰机
- ⑨ 超声波细胞破碎机

- ⑩ 细胞培养转瓶机
- ⑪ 电泳仪、电泳槽
- ⑫ 基因扩增仪 (PCR 扩增仪)
- ⑬ 分子杂交仪
- ⑭ 基因枪/基因导入仪/细胞融合仪
- ⑮ 杂交箱
- ⑯ 干式恒温加热器
- ⑰ 紫外分析仪、核酸蛋白紫外检测仪
- ⑱ 自动液相色谱分离层析仪
- ⑲ 冷冻干燥机
- ⑳ 收集仪、收集器
- ㉑ 多头细胞样品收集器
- ㉒ 图像分析系统
- ㉓ 液氮罐
- ㉔ 净化设备
- ㉕ 渗透压仪
- ㉖ 生物化学发光测量仪

2. 常用实验仪器使用方法

(1) 电子顶载天平的使用方法 电子顶载天平的最大载荷 280g, 感量 0.001g, 对所使用的环境要求不太高。电子顶载天平采用压力传感器进行单盘称量, 有称量范围选择开关, 最大称量设为 280g (精度 0.01g) 和 28g (精度 0.001g) 两挡, 自由变换即可。设有消除键 (TARE), 以方便除去容器重量, 可连续称量。数字显示反应灵敏, 一目了然。机器背面有打印机接口, 面板上有打印键 (PRINT), 对多个样品称量时可自动编号, 打印称量结果, 免去手工记录数据, 准确无误。称量盘上有防风罩, 能防止或减弱空气流动对称量造成的影响, 故可以在普通实验室内使用。面板上有水准仪, 能方便调整仪器的水平。使用方法如下。

① 首先检查称量盘和防风圈内有无撒落的药品, 必要时小心取下称量盘和防风圈, 清扫干净后重新装好。

② 观察仪器是否水平, 必要时进行调整。

③ 根据称样量和盛装容器的重量, 将称量范围选择开关拨至适当挡位 (280g 或 28g)。

④ 插上电源, 打开天平后部的电源开关, 显示屏闪烁几次之后出现 “0.00” 或 “00.000”, 如有读数, 按清除键使之回零, 初次称量时, 最好预热 10min。

⑤ 将称量瓶 (称量纸或小烧杯) 轻轻放在称量盘中央, 待数值显示稳定后, 按消除键扣除容器或称量纸重, 使数字显示为 “0”; 小心加入被称量物, 待数字显示稳定后即可读数, 如不符合要求, 可酌情增减。记录称量结果或用打印机自动记录。

⑥ 称量完毕, 取下被称量物, 关闭电源开关, 拔下插头, 检查并做必要的清洁工作, 最后盖上防尘罩。

⑦ 每个使用者均应在天平使用记录本上登记, 记录天平的最终状况。

(2) 电子分析天平的使用方法 电子天平的型号不同, 称量范围、灵敏度等都不相同。使用前要仔细阅读各自型号的说明书。下面以 DT200 为例介绍操作方法。

① 接通 220V 电源 (应有良好地线), 打开电源开关。

② 在称量盘空时,按一下“ON/OFF”键,显示窗内绿色显示器全亮“8888”后,接着依次显示“E-1”至“E-9”,表示微机正在检查天平各个部分,然后显示“0.0g”,可进入正常的称量工作(为保证称量稳定,天平应开机预热 15min 后称量)。

③ 当称量盘上加载荷重时,待天平显示稳定后按下去载荷键(T),显示值为“0.0g”后再称量,此时显示为净重。拿掉载荷后,显示载荷的负值,再按下去载荷键,显示回零值。

④ 称量完后,关掉电源,清洁天平。

(3) 微量进样器使用方法 微量进样器常用作气相和液相色谱仪的进样器,在生化实验中主要是用作电泳实验的加样器,通常可分为无存液和有存液两种。

① 0.5~5 μ L 无存液微量进样器:进样器的不锈钢芯子直接通到针尖端处,不会出现存液,用于 5 μ L 以下的极微量液体进样。

② 10~100 μ L 有存液微量进样器:不锈钢的针尖管部分是空心管,进样器柱塞不能到达,因而管内会存有空气或液体。使用时应注意以下几点。

- a. 不能吸取浓碱,以免腐蚀玻璃和不锈钢零件。
- b. 因有存液,所以吸液时要来回多拉几次,将针尖管内的气泡全部排尽。
- c. 针尖管内孔极小,使用后须立即清洗针尖管,以防堵塞。若针尖管堵塞,不能用火烧,只能用直径 0.1mm 的不锈钢丝内心串通。
- d. 进样器未润湿时不可来回拉针芯,以免磨损而漏气。
- e. 若进样器内发黑,有不锈钢氧化物,可用针芯蘸少量肥皂水来回拉动清除。

(4) DYY-6C 型电泳仪的使用方法

- ① 接好电源线并确认与有接地保护的电源插座相连。
- ② 按颜色接好电泳槽与电泳仪的连接导线,并装入电泳样品。
- ③ 确认电源符合要求后,开启仪器的“电源开关”。
- ④ 仪器蜂鸣 4 声,然后显示上一次工作的设定值。对于每次重复同一参数使用时,即可直接选择“Start”后启动输出。

⑤ 如要改变其数值可按上“▲”下“▼”按键。

⑥ 如希望查看并设定电压、电流和定时时间,可以按“选择”键,此时“←”指示相应位置。同样,其数值由上、下调节按键控制。

⑦ 按“启/停”键后,仪器鸣响 4 声,输出启动,“输出指示灯”闪亮,当输出稳定后,稳压/稳流状态改变时,仪器会自动鸣响 2 声以示提醒用户。仪器正常输出后,设定值“Us”、“Is”、“Ts”自动变为实际值“U”、“I”、“T”。

⑧ 在仪器正常输出时,按“选择”键,相应显示“Us”、“Is”、“Ts”。

⑨ 选择设置“Us”、“Is”、“Ts”后,在 8s 内不按任何按键,则自动返回显示实际值“U”、“I”、“T”。

⑩ 在仪器正常输出时若要停机,可按“启/停”键,输出立刻关闭显示“stop”,同时仪器反复鸣响,此时应按一下“选择”键,仪器停止鸣响。如果希望继续工作则应选择“Go on”,定时时间继续累加。而如果选择“Start”,则计时重新从“0:00”开始。

(5) 酸度计(Sartorius PB-10)的使用方法

① 使用前的准备: pH 计在使用前处于待机状态,电极部分浸泡于 4mol/L KCl 的电极贮备液中。

② 校准

a. 按“MODE”(转换)键可以在 pH 和 mv 模式之间进行切换。通常测定 pH 值将模

式置于 pH 状态。

b. 按“SETUP”键，显示屏显示“Clear buffer”，按“ENTER”键确认，清除以前的校准数据。

c. 按“SETUP”键，直至显示屏显示缓冲液组“1.68、4.04、6.86、9.18、12.46”，按“ENTER”键确认。

d. 将电极小心从电极贮备液中取出，用去离子水充分冲洗电极，冲洗干净后用滤纸吸干表面水（注意不要擦拭电极）。

e. 将电极浸入第一缓冲液（6.86），搅拌均匀，等到数值稳定并出现“S”时，按“STANDARDIZE”键，等待仪器自动校准，如果校准时间过长，可按“ENTER”手动校准。校准成功后，作为第一校准点数据被存储，显示“6.86”和电极斜率。

f. 将电极从第一缓冲液中取出，重复步骤 c，洗净电极后，将电极浸入第二缓冲液（4.01），搅拌均匀，等到数值稳定并出现“S”时，按“STANDARDIZE”键，等待仪器自动校准，如果校准时间过长，可按“ENTER”手动校准。校准成功后，作为第二校准点数据被存储，显示“4.01 6.86”和电极斜率，斜率在 95%~105% 范围内，可以接受。如果与理论值有更大偏差，将显示错误信息（ERR），电极应清洗，并重复上述步骤重新校准。

g. 重复以上步骤完成第三点校准（9.18）。

③ 测量：用去离子水反复冲洗电极，滤纸吸干电极表面残留水分后将电极浸入待测溶液，测量过程中等待达到数值稳定，出现“S”时，即可读取测量值。使用完毕后，将电极用去离子水冲洗干净，滤纸吸干电极上的水分，浸于 4mol/L KCl 溶液中保存。

注意事项

pH 玻璃电极测量 pH 的核心部件是位于电极末端的玻璃薄膜，该部分是该仪器最敏感也是最容易受损的地方，在清洗和使用的过程中应避免任何由于不小心造成的碰撞，使用滤纸吸干电极表面残留液时也要注意，不要反复擦拭。

(6) UV-5100 型紫外可见分光光度计的使用方法

① 开启和自检

a. 仪器开启：用电源线连接上电源，打开仪器开关（位于仪器的后右侧），仪器开机后进入系统自检过程。

b. 系统预热：仪器开机后，因电器件需要预热一定的时间后方可达到稳定状态；另外氘灯周围环境也需要一定时间方能达到热平衡，所以仪器需要预热约 20min 后，方可正常使用。预热时可以按任意键跳过。

c. 进入系统主菜单：仪器自检结束后进入主界面。按“MODE”键可以在 T、A、C、F 间自由转换，分别实验透过率测试、吸光度测试、标准曲线和系统法等功能。

② 透过率测试

a. 设定工作波长：在系统主界面下，系统的默认功能项为透过率测试，此时直接按“GOTOλ”键可以进入波长设定界面，用上下键来改变波长值，每按一次该键则屏幕上的波长值会相应增加或减少 0.1nm，按“ENTER”键确认。

b. 按“ZERO”键对当前工作波长下的空白样品进行调 100.0%T。

注意：在调 100.0%T 之前记得将空白样品拉（推）入光路中，否则调 100.0%T 的结果不是空白液的 100.0%T，使得测量结果不正确。

c. 进行测量：当调 100.0%T 完成后，把待测样品拉（推）入光路中，按“ENTER”键进入测量界面（若已经在测量界面下，则无须此项操作，直接进行后面的操作即可），按“ENTER”键即可在当前工作波长下对样品进行透过率的测量。

③ 吸光度测试

- a. 按“MODE”键切换至 A 模式（即吸光度测量模式）。
- b. 设定工作波长，设定方法同“透光率测试”。
- c. 按“ZERO”键对当前工作波长下的空白样品进行调 0.000A。
- d. 进行测量。当调 0.000A 完成后，把待测样品拉（推）入光路中，按“ENTER”键进入测量界面，并按“ENTER”键将测量的数据存入数据存储器区。

(7) 高速冷冻离心机（Eppendorf 5424）的使用方法

- a. 开机：接通离心机电源，并打开电源开关（机身后部），离心机准备就绪并激活显示。
- b. 设置离心参数：打开离心机电源并按下“open”按钮打开离心机盖。机器将显示之前一次的设定参数。对称地往转子内装入离心管，拧紧转子盖并盖上离心机盖（也可以不盖转子盖离心）。
- c. 瞬时离心：“short”以指定转速开始瞬时离心。在整个瞬时离心过程中必须持续按住“short”键。转子运转时幕显示“■”符号并闪烁。计时器开始以秒为单位计时。松开“short”键即停止离心。在瞬时离心时，其他按键和旋钮均被屏蔽。

注意事项

- a. 离心前必须盖紧离心管盖，避免液体溢出污染离心机。
- b. 每次启动离心之前，检查转子是否被稳固地拧紧。
- c. 确保密封圈的边缘与转子外缘平齐，说明转子盖已被正确地拧紧。
- d. 预冷时关闭离心机盖。
- e. 放入转子的离心管型号相同，装液量相等，必须配平。
- f. 使用完毕用纸巾擦拭离心机内壁和底部。

(8) L-2000 型分子杂交仪

- ① 接通电源，打开电源开关（加热、鼓风为同一开关），此时加热指示灯亮，箱体内开始加温。
- ② 手按超温报警按钮，调整超温报警旋钮至所需报警的温度值（看显示屏所显的实际值），一般高于控制温度的 5℃ 左右为宜。
- ③ 手按控温按钮，调整控温旋钮至所需温度（看显示屏所显数值），松开按钮后显示屏所显数字为箱体实际温度值。
- ④ 将装好样品的杂交管（特制）夹在转鼓夹具上，并关好箱门。
- ⑤ 打开转轴开关，调动所需要的转速，仪器便开始正常工作。

注意事项

- a. 此种仪器多为做分子杂交用的，接触同位素的时间比较长，使用时请小心慎重。