



普通高等学校精品课程建设教材


# 基础生物学 实验指导

赵海泉◎主编

## 生物化学分册

JICHUSHENGWUXUE  
SHIYANZHIDAO



 中国农业大学出版社

ZHONGGUONONGYEDAXUE CHUBANSHE

## 图书在版编目(CIP)数据

基础生物学实验指导/赵海泉主编. —北京:中国农业大学出版社,2008.8

ISBN 978-7-81117-425-0

I. 基… II. 赵… III. 生物学-实验-高等学校-教学参考资料 IV. Q5-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 125784 号

书 名 基础生物学实验指导 生物化学分册

作 者 赵海泉 主编

策划编辑 魏秀云

责任编辑 孟 梅

封面设计 郑 川

责任校对 王晓凤

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路 2 号

邮政编码 100193

电 话 发行部 010-62731190,2620

读者服务部 010-62732336

编辑部 010-62732617,2618

出 版 部 010-62733440

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

e-mail [cbsszs@cau.edu.cn](mailto:cbsszs@cau.edu.cn)

经 销 新华书店

印 刷 涿州市星河印刷有限公司

版 次 2008 年 8 月第 1 版 2008 年 8 月第 1 次印刷

规 格 787×980 16 开本 7.5 印张 133 千字

定 价 本册定价:12.00 元(总定价:84.00 元)

图书如有质量问题本社发行部负责调换

# 《基础生物学实验指导》

## 教材编写人员

主 编 赵海泉

副主编 蔡永萍

编写人员 (以姓氏笔画为序)

何金铃 陈晓琳 张玉琼

金 青 郭 宁 詹永乐

## 编者的话

安徽农业大学从高等教育发展的需要出发,结合学校的实际情况,自2005年9月起在学校全面实行学分制改革,学分制的教育管理对过去的人才培养模式、专业培养方案、课程设置及学时数等方面进行了大规模的调整。为配合学校学分制改革,加强学生的动手能力,在有限的学时内完成基础生物学实验内容,我们编制了这本《基础生物学实验指导》教材。

教材分《植物学分册》、《动物学分册》、《微生物学分册》、《生物化学分册》、《植物生理学分册》、《细胞生物学分册》和《遗传学分册》7个分册。教材以本科生为使用对象,既满足农业院校各相关专业学生学习基础生物学的要求,也可为生物类专业学生学习基础生物学实验使用。教材以基础生物学实验为内容,吸收国内外有关基础生物学实验的新成果、新方法、新进展,对涉及基础生物学课程的实验有较完整的介绍,并尽可能使各实验课程的内容之间既有相互联系又不交叉重复。在内容的编排上既考虑学科的课程体系,也兼顾农业院校各专业的需要;既依据现有的实验室条件,也按照实验课程的学时设置;既有经典性实验,也有综合性和设计性实验。

教材的编写人员均为长期在基础生物学实验教学一线的老师,具体分工为《植物学分册》由何金铃老师编写,《动物学分册》由詹永乐老师编写,《微生物学分册》由陈晓琳老师和赵海泉老师编写,《生物化学分册》由金青老师编写,《植物生理学分册》由张玉琼老师编写,《细胞生物学分册》由郭宁老师和蔡永萍老师编写,《遗传学分册》由郭宁老师编写,赵海泉老师和蔡永萍老师负责统稿和审稿。

在教材编写的过程中得到了安徽农业大学教务处、生命科学学院和中国农业大学出版社诸多老师的支持和帮助,在此,我们一并表示衷心的感谢。

由于我们的水平有限,加上对实行学分制理解认识的局限,书中的不妥之处在所难免,敬请批评指正。

赵海泉

2008年5月

# 前 言

生物化学是农业院校相关专业重要的学科基础课程,是学习相关后续专业课程必要的前提,随着生物科学的飞跃发展,生物化学实验技术已成为当代生命科学及相关学科研究的重要手段;同时,生物化学实验技术和方法也已广泛地渗透到现代生命科学的各分支领域,掌握生物化学的实验技术、基本原理以及研究过程对了解生物化学的基本理论是非常重要的。开设生物化学实验课程,不仅可以使学生加深对生物化学基本原理、基础知识的理解,而且对培养学生分析问题、解决问题的能力 and 严谨的科学态度以及提高科研技能等都具有十分重要的作用。

为适应学校的教学改革,在涉及生物化学各相关专业人才培养方案中,生物化学理论课与实验课教学时数大幅缩减情况下,积极调整教学内容,不断更新教学手段,力求做到减课时不减质量,减课堂教学不减能力培养,编辑了适合现行教学体制的生物化学实验教学指导书。

根据我校的学分制改革需要,生物化学实验分册共收集了 21 个实验,包括糖类、脂类、蛋白质、核酸、酶、生物代谢 6 大方面,有常用的物质提取、分离、定性、鉴定、定量测定实验;也有广泛应用的 DEAE-纤维素薄板层析、各种凝胶电泳等新技术。本实验分册既包括经典生物化学的验证实验,又包括现代生物化学新技术、新理论的综合实验。教学计划 30 课时,分 10 次进行。实际教学安排可根据各专业要求,从中予以选择、调整。

为兼顾不同专业对生物化学知识与实验技能的需求,充分考虑学生的学习能力与兴趣差异,本书在传统验证性实验的基础上,增加了一定比例的综合性和设计性实验。本教学指导书的主要目的,通过生物化学实验和操作技能让学生巩固和加深理解生物化学基础理论,验证生物化学的基本规律,激发学生探索生物化学规律的浓厚兴趣;熟悉和掌握生物化学研究的基本操作技能,培养学生观察问题、分析问题和解决问题的能力及团队合作的意识,培养严谨的科研作风,进一步启发和提高学生的创造意识和创新能力。

本书注重知识的系统性,力求做到编排合理、层次清晰、概念准确、内容简练、方法实用、便于教学。

本书包含了生物化学教研室全体老师们的丰富经验,同时也融合了编者从事生物化学教学实践的心得与对一些实验方法的改进所作的有效尝试。

书中借鉴了国内一些优秀教材与资料,在此表示衷心的感谢!对于同仁们对本书的编写所给予的关心、支持与帮助表示衷心感谢!

# 目 录

生物化学实验室规则	( 1 )
实验一 纸层析法分析氨基酸	( 2 )
实验二 凝胶层析(分子筛层析)	( 5 )
实验三 血清蛋白质醋酸纤维素薄膜电泳	( 8 )
实验四 牛奶中酪蛋白的提取及测定	( 14 )
实验五 谷物种子中赖氨酸含量的测定	( 19 )
实验六 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法测定蛋白质亚基的相对分子质量	( 22 )
实验七 3,5-二硝基水杨酸比色定糖法	( 27 )
实验八 邻甲苯胺法测定血糖	( 30 )
实验九 酶的化学特性	( 33 )
实验十 外界因素对酶活性的影响	( 38 )
实验十一 琥珀酸脱氢酶的竞争性抑制实验	( 42 )
实验十二 酶促转氨反应的定性鉴定	( 45 )
实验十三 米氏常数( $K_m$ )和最大反应速率( $v_{max}$ )的测定	( 48 )
实验十四 小麦萌发前后淀粉酶活力的比较	( 52 )
实验十五 脂肪酸的 $\beta$ -氧化	( 55 )
实验十六 维生素 A、维生素 B <sub>1</sub> 和维生素 B <sub>2</sub> 的定性实验	( 58 )
实验十七 糖酵解中间产物的鉴定	( 62 )
实验十八 DEAE-纤维素薄板层析法分离鉴定核苷酸	( 64 )
实验十九 酵母 RNA 的提取及含量测定	( 67 )
实验二十 动物组织中 DNA 的提取	( 70 )
实验二十一 DNA 的琼脂糖凝胶电泳	( 72 )
附录一 玻璃仪器的洗涤及各种洗液的配制	( 76 )
附录二 试剂的配制与保存	( 79 )
附录三 常用缓冲溶液的配制	( 83 )
附录四 常用酸碱指示剂及有机溶剂的性质	( 89 )

---

附录五 常用仪器设备的使用·····	( 94 )
附录六 常见蛋白质的相对分子质量和等电点参考值·····	(105)
附录七 硫酸铵饱和度常用表·····	(107)
参考文献·····	(109)



# 生物化学实验室规则

一、实验前须认真预习实验指导,明确实验目的和要求,了解实验的内容和基本原理,熟悉实验的步骤和操作方法。

二、上课不迟到、不早退、不无故旷课;自觉保持实验室的安静,不得大声谈笑、喧哗;随时注意保持实验室整洁,滤纸、废品等必须放入废物桶内。

三、实验中要认真、严格操作,仔细观察,如实记录实验现象和数据,并认真分析问题、处理数据,独立、按时完成实验报告。

四、使用精密、贵重仪器,必须了解其性能和操作方法,并在老师指导下操作。实验中因故损坏仪器、器皿,应及时报告,并要给予适当赔偿。

五、实验中应注意节约药品,不得浪费;公用药品须按规定使用,用后及时放回原处,以备他人使用。

六、凡进行有危险性实验,实验人员应先检查防护措施,确证防护妥当后,才可进行实验。实验中不得擅自离开,实验完成后立即做好善后清理工作,以防事故发生。

七、凡有害或有刺激性气体发生的实验应在通风柜内进行,加强个人防护,不得把头部伸进通风柜内。实验室所用的易燃物品,如乙醚、石油醚、乙醇等低沸点有机溶剂使用时严禁明火,远离火源。若需加热,不可直接在电炉上加热,应使用水浴锅加热。

八、腐蚀和刺激性药品,如强酸、强碱、氨水、过氧化氢、冰醋酸等,取用时尽可能戴上橡皮手套和防护眼镜,倾倒时,切勿直对容器口俯视,吸取时,应该使用橡皮球。若操作不小心被强酸、强碱溅到皮肤上,应立即用大量自来水冲洗。若被强酸灼伤,用饱和  $\text{NaHCO}_3$  溶液中和;若被碱灼伤用饱和  $\text{H}_2\text{BO}_3$  溶液中和;被氧化剂伤害,用  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  处理。

九、不使用无标签(或标志)容器盛放的试剂、试样。

十、实验室内严禁吸烟、饮食,以免误食和吸入有害物质。

十一、实验室内的一切物品,未经本室负责教师批准,严禁带出室外。借物必须办理登记手续。

十二、实验结束,应及时洗涤器皿、整理台面,并检查水电(如水龙头是否关紧,电插头是否拔下);值日生处理废物,清扫地面;待老师检查认可后方可离开实验室。

# 实验一 纸层析法分析氨基酸

## 一、实验目的与原理

1. 目的:掌握纸层析法的一般原理和操作方法,并用以分离鉴定游离氨基酸组分;了解氨基酸的特征性颜色反应。

2. 原理:纸层析法是分配层析法的一种,常以滤纸作为惰性支持物。纸层析是分离、鉴定和定量测定微量氨基酸的简易、有效的方法。

纸层析的原理主要是根据被分析的样品在两相溶剂系统中的分配系数不同,在纸上移动的速率也不同,从而达到分离的目的。纸层析所用展层溶剂大多由水和有机溶剂组成。水和有机溶剂互溶后形成两个相:一是饱和了有机溶剂的水相,另一是饱和了水的有机溶剂相。滤纸纤维与水的亲和力强,与有机溶剂的亲和力弱,因此,水相为固定相,有机溶剂相为流动相。将样品点在滤纸上,进行展层,样品中的各种氨基酸就在固定相和流动相之间不断进行分配。由于物质的极性大小不同,在两相中的分配比例有所差异。极性大的物质在水相中分配较多,移动相对较慢;极性小的物质在有机相中分配较多,随有机相移动较快,从而将极性不同的物质分开,形成距原点不同的层析点。

物质被分离后在纸层析图谱上的位置可用  $R_f$  (比移)值来表示:

$$R_f = \frac{\text{样品原点到斑点中心的距离}}{\text{原点到溶剂前沿的距离}}$$

在一定的条件下测得某种物质的  $R_f$  值是常数。 $R_f$  值的大小与物质的结构、性质、溶剂系统、层析纸的质量、层析温度和展层方向(横向,上行或下行)等因素有关。

用纸层析鉴定样品时,一般都与标准品相比较。若没有标准品,可选择文献记载的该物质层析条件,根据文献  $R_f$  值进行鉴定。

## 二、实验用品

1. 材料:氨基酸。

2. 器材:层析缸,培养皿,冷热电吹风机,烘箱,毛细管,针,线。

3. 试剂:展层剂和平衡液:正丁醇:冰醋酸:水=4:1:5,充分摇匀,用分液漏斗取上层液作展层剂,下层液作平衡液;样品液:用水配成每毫升含有苯丙氨酸、丙氨酸、组氨酸、脯氨酸各4 mg的4种氨基酸溶液,以及上述4种氨基酸的混合液(各4 mg·mL<sup>-1</sup>),苯丙氨酸不易溶解于水,应稍微加热使之溶解;茚三酮:按展层剂0.25%的比例将茚三酮加入展层剂中,使其溶解。

### 三、实验内容与操作

#### (一)纸的处理

取25 cm×15 cm的滤纸一张,离底边2 cm处用铅笔轻轻划一条与底边平行的线,并等距离的在线上定点样点(原点)划圈,使圈的直径小于0.5 cm。

#### (二)点样

在每个圈下用铅笔记上每种氨基酸的代号(混合样可写M),然后用毛细管吸取样品,轻轻地点到相应的氨基酸圈内,待晾干或用冷风吹干后再点第2次。每个样品共点5~7次。

#### (三)饱和

将点好样的滤纸纵向卷起来,点样面向里,点样点位于一端,用针线缝成筒状,不要使滤纸两边接触(图1-1),然后将滤纸筒直立于层析缸中,划线点样端向下。滤纸筒放在培养皿周围(培养皿中预先放入平衡液)饱和1 h。

#### (四)层析

把饱和过的滤纸筒转移到另一层析缸中的培养皿内(培养皿中预先放入2/3量的展层剂),样品端向下垂直放置,切勿使展层剂浸到样品点。当溶剂前沿到达离上端约3 cm处,取出滤纸,用铅笔描出溶剂前沿,晾干。

#### (五)显色

将晾干滤纸放入烘箱中(105℃),烤几分钟后,滤纸上即显出氨基酸斑点。用铅笔描出斑点轮廓(图1-2)。

### 四、注意事项

1. 整个操作过程中,手只能接触滤纸边缘,否则会在滤纸上留下手指上的氨基酸斑点。
2. 点样时,勿将毛细管插错试剂瓶。
3. 展层结束后,切勿忘记用铅笔描出溶剂前沿。

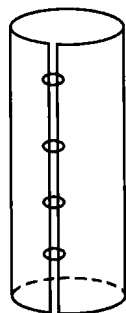


图 1-1 滤纸的缝合

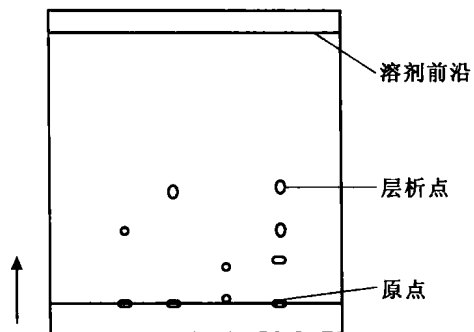


图 1-2 层析图谱

### 五、作业与思考题

1. 计算各种氨基酸的  $R_f$  值并用以判断混合氨基酸的组分。
2. 氨基酸纸上层析用哪种物质作为显色剂？这种显色剂与哪些氨基酸反应不产生蓝紫色？
3. 根据我们做的实验，说明几种标准氨基酸的  $R_f$  值为何不同？
4. 试分析层析斑点的拖尾现象。

## 实验二 凝胶层析(分子筛层析)

### 一、实验目的与原理

1. 目的:熟悉凝胶层析法的基本原理及应用;初步学会用凝胶层析分离蛋白质的基本方法。

2. 原理:凝胶层析法也称分子筛层析法,是指混合物随流动相经过凝胶层析柱时,其中各组分按其分子大小不同而被分离的技术。该法设备简单、操作方便、重复性好、样品回收率高,除常用于分离纯化蛋白质、核酸、多糖、激素等物质外,还可用于测定蛋白质的相对分子质量,以及高分子物质样品的脱盐和浓缩等。由于整个层析过程中一般不变换洗脱液,有如过滤一样,故又称凝胶过滤。

凝胶是一种不带电荷的具有三维空间的多孔网状结构、呈珠状颗粒的物质,每个颗粒的细微结构及筛孔的直径均匀一致,像筛子。直径大于孔径的分子将不能进入凝胶内部,便直接沿凝胶颗粒的间隙流出,所以向下移动的速度较快;小分子物质除了可以在凝胶颗粒间隙中扩散外,还可以进入凝胶颗粒的微孔中,即进入凝胶相中,因此在向下移动的过程中,必须等待它们从凝胶颗粒内扩散至颗粒间隙后再进入另一凝胶颗粒,造成在柱内保留时间长,小分子物质的下移速度必然落后于大分子物质,从而使混合样品中分子大小不同的物质随洗脱液按顺序地流出柱外而得到分离。具有这种效应的物质很多,其中效果较好的有葡聚糖凝胶、琼脂糖凝胶等。

葡聚糖凝胶是最常用的一种凝胶,商品名为 Sephadex,是由细菌葡聚糖(又称右旋糖苷, dextran)通过交联剂 1-氯, 2,3-环氧丙烷(表氯醇)交联而成的凝胶。在合成凝胶时,调节交联剂和葡聚糖的配比,可以获得不同大小网眼的凝胶。G 值表示交联度,G 值越小交联度越大,凝胶颗粒网眼越小,吸水量也少。Sephadex G-50 可用于分离相对分子质量 500~10 000 的蛋白质。

凝胶层析原理可简单用图 2-1 表示。

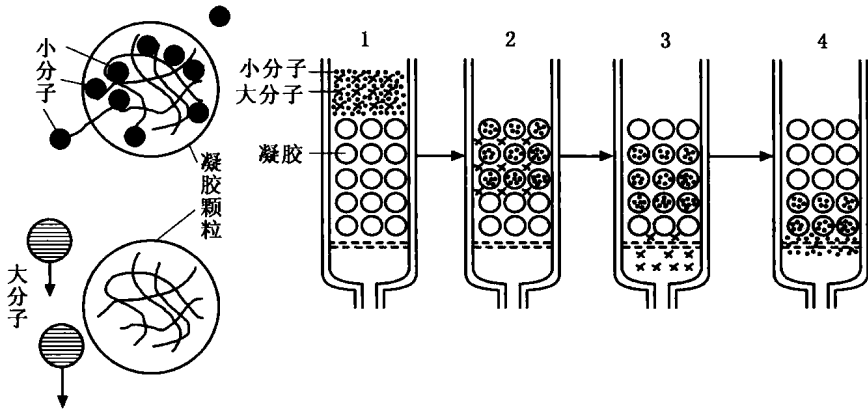


图 2-1 凝胶层析的简单原理

1. 含有大小分子的样品液上柱
2. 样品液流经层析柱, 小分子通过扩散作用进入凝胶颗粒的微孔中, 而大分子则被排阻于颗粒之外
3. 向层析柱顶加入洗脱液, 大小分子分开的距离增大
4. 大分子物质行程较短, 已流出层析柱, 小分子物质尚在行进之中

## 二、实验用品

1. 器材: 层析柱(1 cm×20 cm), 胶头滴管, 玻棒, 烧杯(50 mL)等。

2. 试剂: 葡聚糖凝胶 G-50; 蒸馏水; 待分离样品: 血红蛋白、铜溶液; 铜溶液: 3.70 g 硫酸铜溶于 10 mL 热蒸馏水中, 冷却后稀释至 15 mL, 另取柠檬酸钠 17.3 g 及碳酸钠( $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )10 g 加水 60 mL, 加热使之溶解, 冷却后稀释至 85 mL, 最后把硫酸铜溶液缓缓倾入柠檬酸钠溶液中, 混匀。

## 三、实验内容与操作

### (一) 凝胶的预处理

**溶胀:** 商品凝胶是干燥的颗粒, 使用前需将干颗粒在过量的洗脱液中充分溶胀。称取 Sephadex G-50 2 g 于 50 mL 小烧杯中, 加 5~10 倍的洗脱剂溶胀。溶胀一般可以用两种方法:

**自然溶胀:** 将凝胶放入洗脱剂后在室温下放置, 一般至少需 24 h, 有的需要数天。

**热法溶胀:** 将浸泡的凝胶煮沸 1~2 h, 一般即可充分溶胀。加热不仅可节约时间, 而且可消除细菌污染及排除凝胶内部的空气。

用倾泻法除去混杂的细小颗粒,重复 3~4 次即可。

### (二)装柱

取层析柱一支,然后加水充分赶气泡。将已经溶胀的凝胶小心地灌到柱中,最好一次装完,以免出现不均匀的凝胶带。为此,在装柱时,一要调整好凝胶的稠度,二要打开下端橡皮管上螺旋夹,并调节适当的流速(约每分钟 10 滴)至凝胶沉积约 15 cm 高度即可。操作过程中,应防止气泡与分层现象发生。如表层凝胶凹陷不平时,可关闭出口,用玻棒轻轻搅动,再让凝胶自然沉降,凝胶沉积后再打出口。注意勿使凝胶面洗脱剂流干。

### (三)样品制备

取血红蛋白和铜溶液各 0.5 mL 于小量杯中混匀。

### (四)加样与洗脱

先打出口,使洗脱剂(蒸馏水)流出至凝胶面上保留 1~2 mm,用滴管将样品小心加到凝胶床表面上。加样时既不要破坏凝胶表面,也不要沿壁加样(样品易从壁和胶床间流下)。使样品进入,将 1~2 mL 蒸馏水加入柱中(蒸馏水不可多,防止样品稀释)。当此少量蒸馏水将要流干时,反复加入多量蒸馏水进行洗脱。注意勿使柱流干。

### (五)收集

加蒸馏水洗脱,当有颜色溶液流出凝胶柱时,用小试管收集洗脱液,观察并记录洗脱过程凝胶柱的颜色变化。收集 6~7 管(2 mL/管),观察试管中溶液的颜色。

### (六)凝胶的洗涤与保存

洗脱液收集完毕,用 2~3 倍柱床体积的蒸馏水通过凝胶柱洗干净凝胶,再将凝胶倒入小烧杯,加蒸馏水 10 mL 左右。最后交给老师作进一步处理保存。

## 四、注意事项

1. 在装柱过程中,勿使胶内或柱底端含有气泡,若有应驱赶出,或重新装柱。
2. 整个操作过程中,勿使柱内凝胶面洗脱剂流干。
3. 实验完毕后,应将处理好的凝胶交给老师,切勿丢弃。

## 五、作业与思考题

1. 利用图或表格形式描述各管收集液,并分析各是什么物质。
2. 利用凝胶层析法分离混合样时,怎样才能得到较好的分离效果?

# 实验三 血清蛋白质醋酸纤维素薄膜电泳

## 一、实验目的与原理

1. 目的:理解电泳技术的一般原理;学习利用醋酸纤维素薄膜电泳分离血清蛋白质的方法。

2. 原理:电泳是带电颗粒在电场作用下向着与其电性相反的电极移动。醋酸纤维素薄膜电泳是以醋酸纤维素薄膜作为支持物的电泳方法。醋酸纤维是纤维素的羟基乙酰化形成的纤维素醋酸酯,将它溶于有机溶剂(如丙酮、氯仿、氯乙烯、乙酸乙酯等)后,涂抹在薄薄的聚乙烯面上形成均匀的薄膜,则成为醋酸纤维素薄膜。该膜具有均一的泡沫状结构,渗透性强,对分子移动无阻力,厚度约  $120\ \mu\text{m}$ 。用此膜为区带电泳的支持物进行蛋白质电泳,它具有微量、快速、简便、分辨力高、对样品无拖尾和吸附等优点,该技术广泛应用于血清蛋白、血红蛋白、糖蛋白、脂蛋白、结合球蛋白、同工酶的分离和测定等方面。

本实验以醋酸纤维素薄膜为电泳支持物,分离血清蛋白。血清中含有数种蛋白质,各种蛋白质由于氨基酸组分、立体构象、相对分子质量、等电点及形状不同,在电场中迁移速度不同。相对分子质量小、等电点低、带电荷多、质点直径越小、越接近于球形,在同一 pH 溶液中,泳动速度越快;反之,则越慢。因此,可利用电泳法将它们分离开来。例如,以醋酸纤维素薄膜为支持物,正常人或动物血清在 pH 8.6 的缓冲液体系中电泳 1 h 左右,染色后可显示 5 条区带或 7 条区带,一般 5 条区带。其中清蛋白泳动最快,其余依次为  $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ -球蛋白(图 3-1),这些区带经洗脱后可用分光光度法定量,也可直接进行光吸收扫描,自动绘出区带吸收峰及相对百分比,临床医学常用它们间相对百分比的改变或异常区带的出现作为鉴别诊断的依据。

影响泳动速度的主要因素有:溶液的 pH,电场强度,溶液的离子强度,电渗现象和温度。



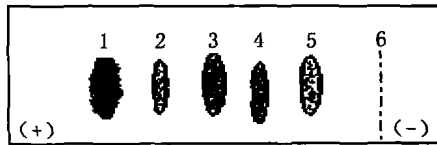


图 3-1 醋酸纤维素薄膜电泳示意图

1. 清蛋白 2,3,4,5, 依次为  $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ -球蛋白 6. 点样原点

表 3-1 血清中 5 种蛋白质的等电点及相对分子质量和百分含量

蛋白质	等电点 (pI)	相对分子质量 (MW)	百分含量 (%)
清蛋白	4.88	68 500	51~61
$\alpha_1$ -球蛋白	5.06	200 000	4~5
$\alpha_2$ -球蛋白	5.06	300 000	6~9
$\beta$ -球蛋白	5.12	90 000~150 000	9~12
$\gamma$ -球蛋白	6.85~7.56	156 000~300 000	15~20

## 二、实验用品

1. 材料: 未溶血的人或动物血清。

2. 器材: 醋酸纤维素薄膜(2 cm×8 cm), 电泳仪和电泳槽, 培养皿, 白瓷盘, 镊子, 点样器和点样管(自制), 直尺和铅笔, 普通滤纸, 吹风机。

3. 试剂: 巴比妥缓冲液(pH 8.6, 离子强度 0.07): 称取巴比妥 2.76 g 和巴比妥钠 15.45 g, 溶于少量蒸馏水后定容至 1 000 mL; 染色液: 称取氨基黑 10B 0.25 g, 甲醇 50 mL, 冰醋酸 10 mL, 加蒸馏水 40 mL, 混匀, 在具塞试剂瓶内贮藏(可重复使用); 漂洗液: 取 95%乙醇 45 mL, 冰醋酸 5 mL, 蒸馏水 50 mL, 混匀即得; 透明液: 冰醋酸 15 mL 和无水乙醇 85 mL, 混匀即得。

## 三、实验内容与操作

### (一) 薄膜的准备

用镊子取醋酸纤维素薄膜一张, 放在盛有缓冲液中浸泡约 0.5 h 以上。若漂浮于液面的薄膜在 15~30 s 内迅速润湿, 整条薄膜色泽深浅一致, 则此膜均匀可用于电泳; 若薄膜润湿缓慢, 色泽深浅不一或有条纹及斑点, 则表示薄膜厚度不均匀应弃去, 以免影响效果。薄膜浸透后, 用镊子轻轻取出, 夹在两层滤纸内吸干, 方