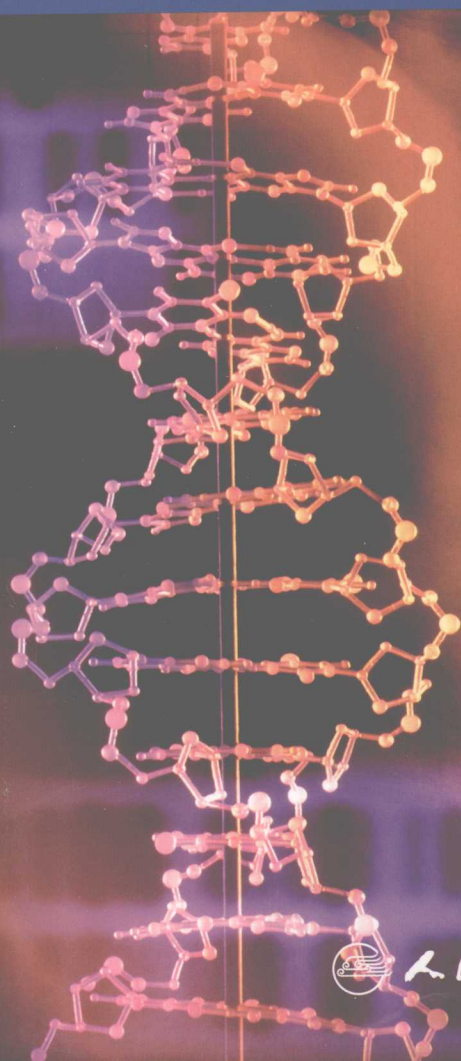



高等医药院校实验课程教材

生物化学与分子生物学 实验指导

第2版

主编 李林 张悦红 副主编 郭睿 胡小年



 人民卫生出版社

高等医药院校实验课程教材

生物化学与分子生物学 实验指导

第2版

主 编 李 林 张悦红

副主编 郭 睿 胡小年

编 者 (按姓氏笔画排序)

于保锋 (山西医科大学)	张 栋 (山西医科大学)
马义丽 (桂林医学院)	张悦红 (山西医科大学)
王晓霞 (山西医科大学)	邵鸿娥 (大同大学医学院)
王惠珍 (山西医科大学)	胡小年 (中国医学科学院基础所)
刘利兵 (解放军第四军医大学)	莫之婧 (桂林医学院)
闫 峻 (山西医科大学)	徐宏伟 (青岛大学基础医学院)
闫 萍 (山西医科大学)	郭 睿 (山西医科大学)
杜 卫 (青岛大学基础医学院)	郭晓强 (解放军白求恩军医学院)
杨 涛 (山西医科大学)	黄 凯 (解放军白求恩军医学院)
李 林 (解放军白求恩军医学院)	黄青山 (复旦大学生命科学院)
苏何玲 (桂林医学院)	霍 群 (桂林医学院)

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

生物化学与分子生物学实验指导/李林等主编. —2版.
—北京: 人民卫生出版社, 2008.6
ISBN 978-7-117-10181-3

I. 生… II. 李… III. ①生物化学—实验—高等学校—
教学参考资料②分子生物学—实验—高等学校—教学参
考资料 IV. Q5-33 Q7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 060085 号

李林 张悦红 主编

李林 张悦红 主编

(北京协和医学院) 李林 张悦红 主编

(北京大学西山) 李林 张悦红 主编

(北京大学西山) 李林 张悦红 主编

(清华大学) 李林 张悦红 主编

(北京协和医学院) 李林 张悦红 主编

(北京大学) 李林 张悦红 主编

生物化学与分子生物学实验指导

(北京大学) 李林 张悦红 主编

第 2 版

主 编: 李林 张悦红 主编

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-67616688)

地 址: 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

邮 编: 100078

网 址: <http://www.pmph.com>

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

印 刷: 北京市燕鑫印刷有限公司 (万通)

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 11.25

字 数: 266 千字

版 次: 2004 年 7 月第 1 版 2008 年 6 月第 2 版第 6 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-10181-3/R·10182

定 价: 21.00 元

版权所有, 侵权必究, 打击盗版举报电话: 010-87613394

(凡属印装质量问题请与本社销售部联系退换)

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科学的各个领域。尤其是 20 世纪 70 年代以来,分子生物学技术完成了创建、成熟与普及过程,使生命科学步入了迅猛发展、日新月异的崭新阶段。以基因工程为核心的现代生物技术,奇迹般地形成了一个遥遥领先的高新技术群,它正以其巨大的活力推动着社会生产力的进步,展示着惊人的发展潜力和极其广阔的应用前景。

科学与技术从来就是密不可分的。理论的突破促进了技术的发展,实验技术方法、手段的更新又为理论研究提供了必需的工具和有力保证;二者息息相关、彼此促进、相互依存,共同丰富着人类的知识宝库,推动着人类文明的进步。

学习和掌握生物化学与分子生物学的基本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。

实验教学既依附于学科理论教学,又具有相对独立性。实验教学体现了学生参与、师生互动、加强实践、促进思维的现代教育理念,是培养学生创新意识、动手能力及科研能力的良好手段。因此,加强学生实验能力的培养,是进行教学改革及综合素质教育的重要方面。因此,实验教学是医学教育中不可忽视的重要环节。

为了使医学生不仅能够系统地学习和掌握生物化学与分子生物学的基本实验技能,而且能够通过实验教学达到创新性教育的目的,2004 年,我们组织了相关院校有丰富教学经验并热心于教学改革的教师们编写了生物化学与分子生物学实验教材。我们对基本实验内容进行了精心选择和取舍,根据不同的教学目标,本着由浅入深、循序渐进、注重创新的原则,将实验内容组合为:①理论验证试验。着重验证学科理论教学内容,突出实验教学与理论知识的密切联系,加深对理论知识的理解。②基本技术实验。即通过实验操作,使学生掌握基本实验技能。③综合强化实验。即一个实验中包含着几个内容,要运用几种不同的技术才能完成一个完整的实验,以此来进一步强化训练学生的综合实验技能。④学生设计性实验。训练学生自定题目、自选方案、自查文献、自行设计实验,有条件时可以进行具体验证。以此培养学生的创新意识、动手能力和基本科研能力,有利于全面素质的提高。本教材体例新颖、内容实用、注重创新,体现素质教育和能力培养。

第 1 版教材已在多所院校使用四个学年,多次重印,得到同行和学生们的一致认可。为使这本教材更臻完善并得到进一步推广,我们根据相关院校师生的反馈信息对本教材作了相应修订,编写了该实验教材的第 2 版。

第 2 版教材基本遵循第 1 版的编排构架,对部分内容进行了调整。在第一篇中增加了生物化学实验基本操作及透析技术两章;其他包括分光光度技术、电泳技术、层析技术、离心技术、生物大分子制备和分子生物学基本技术原理等有些章节也重新写过,以求反映实验技术的新进展并更加贴近教学实际。第二篇实验部分作了调整,减少了理论验证实验,强化了综合实验与分子生物学实验,增加了学生设计实验的教学组织案例。第三篇中

增加介绍了生物化学与分子生物学的相关网站,以便于学生学习与资料查询。

本教材由主编拟定大纲,各作者分工编写,集体审阅、讨论,定稿,是各位同仁精诚合作、辛勤劳动的共同结果。对于教材中难免出现的疏漏、错误及种种不妥之处,敬请广大师生提出宝贵意见。

在本书的编写过程中,得到了解放军白求恩军医学院和山西医科大学各级领导的大力支持和具体指导,在此表示我们最诚挚的谢意。

李林 张悦红

2008年5月

目 录

第一篇 生物化学与分子生物学实验基本技术	
第一章 生物化学实验基本操作	1
第一节 实验室规则	1
第二节 基本实验操作	2
一、玻璃仪器的清洗	2
二、玻璃仪器的干燥	2
三、特殊污物的清洗	2
四、塑料器皿的清洗	2
五、刻度吸管的使用	3
六、可调式微量移液器的使用	3
七、溶液的混匀、加热、保温及冷却	4
第三节 常用实验仪器的使用	5
一、LD5-2A 离心机的使用方法	5
二、722 型分光光度计的使用方法	5
三、752 紫外光栅分光光度计的使用方法	6
第四节 常用实验标本的制备	7
一、血液样本的收集	7
二、尿液样本的收集与保存	7
三、组织样品的制备	8
第五节 实验报告的书写	10
一、实验报告基本格式	10
二、书写实验报告应注意事项	10
第二章 分光光度技术	
第一节 基本原理	11
一、光的一般知识	11
二、发射光谱与吸收光谱	12
三、朗伯-比尔定律	12
第二节 分光光度计的结构	13
一、光源	14
二、分光系统	14
三、狭缝	14

四、吸收池	15
五、检测系统	15
第三节 分光光度技术的应用	15
一、用于溶液中物质的定量测定	15
二、用于溶液中物质的定性测定	16
第三章 电泳技术	17
第一节 基本原理	17
一、电泳的概念	17
二、电泳的主要影响因素	17
第二节 电泳的分类	19
一、按分离目的分类	19
二、按分离原理分类	19
三、按支持介质分类	19
四、其他分类	20
第三节 常用电泳技术	20
一、纸电泳	20
二、醋酸纤维素薄膜电泳	20
三、琼脂糖凝胶电泳	21
四、聚丙烯酰胺凝胶电泳	21
五、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳	22
六、等电聚焦电泳	23
七、双向电泳	24
八、毛细管电泳	24
九、特殊电泳	25
第四章 层析技术	26
第一节 基本知识	26
一、层析的基本概念	26
二、层析技术的分类	26
三、层析的基本原理	26
第二节 离子交换层析	27
一、基本原理	27
二、离子交换介质	28
三、分离过程	29
四、离子交换层析的应用	30
第三节 凝胶层析	30
一、基本原理	30
二、常用凝胶	31

36	三、凝胶层析的应用	32
36	第四节 亲和层析	33
37	一、基本原理	33
37	二、基质与配体的选择	33
38	第五节 高效液相色谱	35
38	一、基本概念	35
38	二、基本装置	35
38	第五章 离心技术	38
38	第一节 基本原理	38
38	一、离心力	38
38	二、相对离心力	39
38	三、沉降系数	39
38	第二节 离心机的类型	39
38	一、制备性离心机	39
38	二、分析性离心机	41
38	第三节 制备性超速离心的分离方法	41
38	一、差速沉降离心法	41
38	二、速度区带离心	42
38	三、等密度离心	42
38	第四节 离心操作的注意事项	42
38	第六章 透析技术	44
38	第一节 透析原理及影响因素	44
38	第二节 透析技术的应用	45
38	第三节 透析操作及注意事项	45
38	第七章 生物大分子制备	47
38	第一节 细胞破碎及细胞器分离	47
38	一、细胞破碎	47
38	二、细胞器分离	48
38	第二节 生物大分子的分离与纯化	49
38	一、蛋白质(酶)的分离与纯化	49
38	二、核酸的分离与纯化	53
38	第三节 提纯后的处理	54
38	一、样品的浓缩	54
38	二、样品的干燥及贮存	55

第八章	分子生物学基本技术原理	56
80	第一节 核酸分子杂交	56
80	一、核酸分子杂交的基本理论	56
83	二、核酸分子探针	57
80	三、核酸分子杂交的种类与方法	60
88	第二节 DNA 克隆技术基本原理	63
88	一、获取目的基因	64
	二、构建基因载体	65
80	三、限制性内切核酸酶的作用	68
80	四、DNA 分子重组	70
80	五、重组 DNA 分子导入宿主细胞	70
80	六、阳性重组体的筛选和鉴定	71
80	七、克隆基因的表达	72
90	第三节 聚合酶链反应	74
90	一、基本原理与方法	74
10	二、PCR 技术的应用	75
11	第二篇 生物化学与分子生物学教学实验	
11	第九章 基本理论实验	77
91	实验一 蛋白质的沉淀、变性及等电点的测定	77
91	一、蛋白质的沉淀与变性	77
	二、蛋白质等电点的测定	80
91	实验二 理化因素对唾液淀粉酶活性的影响	81
91	实验三 琥珀酸脱氢酶的竞争性抑制作用	84
91	实验四 脂肪酸的 β -氧化作用——酮体的生成和利用	85
91	实验五 血清丙氨酸氨基转移酶活性测定(赖氏法)	88
91	第十章 基本技术实验	91
91	实验六 蛋白质的透析	91
91	实验七 蛋白质的定量测定(一):酚试剂法(Lowry 法)	92
91	实验八 蛋白质的定量测定(二):紫外分光光度法	95
91	实验九 血清蛋白质醋酸纤维薄膜电泳	96
91	实验十 血清脂蛋白琼脂糖凝胶电泳	99
91	实验十一 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定蛋白质分子量	102
91	实验十二 肌肉组织氨基移换作用(纸层析法)	105
91	实验十三 胡萝卜素的柱层析分离	108
91	实验十四 细胞核的分离与纯化	110

第十一章 综合强化实验	114
实验十五 激素对血糖浓度的影响	114
一、血糖的定量测定——葡萄糖氧化酶法.....	114
二、胰岛素、肾上腺素对血糖浓度的影响.....	115
实验十六 血清 γ-球蛋白的分离、纯化及鉴定	117
实验十七 核酸的制备及测定	121
第十二章 分子克隆技术基础实验	128
实验十八 质粒 DNA 的提取(碱裂解法)	128
实验十九 限制性核酸内切酶对质粒 DNA 的酶切作用	130
实验二十 DNA 的琼脂糖凝胶电泳	132
实验二十一 感受态细菌的制备及质粒 DNA 的转化	135
实验二十二 核酸的分子杂交	137
实验二十三 聚合酶链反应体外扩增 DNA(PCR)	140
第十三章 学生设计性实验	144
第一节 设计性实验概述	144
一、设计性实验的概念.....	144
二、医学科学研究的类型和医学实验的要素.....	144
三、学生设计性实验的基本程序.....	145
第二节 设计性实验的选题和设计	145
一、设计性实验的选题.....	145
二、实验设计.....	146
第三节 数据的记录与处理	149
一、实验研究的观察记录.....	149
二、实验数据的处理.....	150
第四节 实验报告和论文的撰写	151
一、实验报告的撰写.....	151
二、科研论文撰写.....	153
第五节 设计性实验教学组织案例	155

第三篇 生物化学与分子生物学常用资料及数据

第十四章 化学试剂分级及注意事项	157
第一节 一般化学试剂的分级	157
一、化学试剂的分级.....	157
二、易变质及需要特殊方法保存的试剂.....	158
第二节 试剂配制的一般注意事项	158

第十五章 常用试剂配制	159
第一节 生物化学与分子生物学实验中常用试剂的配制	159
一、有机试剂的配制.....	159
二、细菌培养基和抗生素的配制.....	159
三、生化实验中常用缓冲液配制.....	161
四、常用电泳缓冲液.....	162
五、常用凝胶上样缓冲液的配制.....	162
六、常用贮存液的配制.....	163
七、细菌的保存.....	165
第二节 重铬酸洗液的配制与再生	165
附录 常用的生物化学与分子生物学相关网站	167
一、国内网站.....	167
二、国外网站.....	167
参考文献	169
1. 生物化学.....	169
2. 分子生物学.....	169
3. 细胞生物学.....	169
4. 微生物学.....	169
5. 免疫学.....	169
6. 遗传学.....	169
7. 发育生物学.....	169
8. 植物生理学.....	169
9. 动物生理学.....	169
10. 生物物理学.....	169
11. 生物数学.....	169
12. 生物信息学.....	169
13. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
14. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
15. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
16. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
17. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
18. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
19. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
20. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
21. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
22. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
23. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
24. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
25. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
26. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
27. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
28. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
29. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
30. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
31. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
32. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
33. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
34. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
35. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
36. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
37. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
38. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
39. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
40. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
41. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
42. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
43. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
44. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
45. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
46. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
47. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
48. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
49. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
50. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
51. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
52. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
53. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
54. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
55. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
56. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
57. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
58. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
59. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
60. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
61. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
62. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
63. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
64. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
65. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
66. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
67. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
68. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
69. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
70. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
71. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
72. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
73. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
74. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
75. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
76. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
77. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
78. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
79. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
80. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
81. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
82. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
83. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
84. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
85. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
86. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
87. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
88. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
89. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
90. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
91. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
92. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
93. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
94. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
95. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
96. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
97. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
98. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
99. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169
100. 生物化学与分子生物学实验指导.....	169

第一篇 生物化学与分子生物学 实验基本技术

第一章

生物化学实验基本操作

第一节 实验室规则

1. 穿白大衣进入实验室,关闭手机。将书包、大衣等放入各室的贮藏柜内。
2. 自觉遵守课堂纪律,不迟到早退;不能在实验室内吸烟、饮食和大声喧哗。
3. 课前预习。了解实验目的及操作要点,实验过程中要听从教师的指导,严格按操作规程进行,如实记录实验中出现的现象、结果和数据。
4. 保持实验室内整洁。试剂瓶及仪器等物品要放置整齐、有序。实验结束后要对所有用过的物品进行清洁整理,摆放整齐。用过的滤纸、棉花、动物组织等固体废物切勿倒入水池;强酸、强碱性废液应以大量水稀释后倒入水池。
5. 爱护公物。对贵重、精密仪器如离心机、分光光度计、电泳仪、微量加样器等,应先了解正确使用方法,在教师指导下操作。
6. 注意安全。在使用乙醇、乙醚、苯、酚等易燃有机溶剂时,务必远离火源,严禁在煤气、电炉、酒精灯上直接加热;对试管内容物加热时,管口不许对人;取强酸强碱、血清或有毒液体时,严禁口吸、乱甩,若滴洒在器皿外,要及时用湿布擦净。
7. 实验完毕,值日生除负责搞好实验室卫生外,要切实关好水、电、窗,并经教师检查后才可离去。
8. 第一次实验课时,要仔细清点小组实验器材,如有缺损由教师补发或调换。在以后的实验中,如有损坏,报告教师并填写登记,按规定价格赔偿。

第二节 基本实验操作

一、玻璃仪器的清洗

生物化学实验所用的各种玻璃仪器,其清洁程度直接影响到实验结果的准确性。因此,玻璃仪器不干净或被污染,会造成实验误差。玻璃仪器的清洗有很多方法,需根据实验要求,选用合适的清洁方法。

1. 一般敞口玻璃仪器 如试管、离心管、烧杯,其洗涤过程如下:用毛刷蘸取洗衣粉,将仪器内外仔细洗刷,用自来水冲洗干净后,再用蒸馏水冲洗 2 次,倒置于仪器架上晾干备用。

2. 容量分析仪器 如吸量管、容量瓶,其洗涤过程如下:新购容量仪器的表面附有游离的碱性物质和泥污,应先用洗衣粉洗刷,再用自来水冲洗,晾干后,浸泡在重铬酸钾-硫酸溶液中过夜(不少于 4 小时),再用自来水冲洗,最后用蒸馏水冲洗 2 次,倒置于仪器架上晾干备用。

上述所有玻璃器材洗净,以倒置后,玻璃器皿内壁不挂水珠为干净的标准。

注:高锰酸钾-乙醇溶液和高锰酸钾-氢氧化钠溶液是两种强碱性洗涤剂,对玻璃仪器的侵蚀性很强,在清除容器内壁污垢时,洗涤时间不宜过长,使用时应小心防护。

二、玻璃仪器的干燥

所有的玻璃仪器洗净后均可倒置在架上,自然干燥。若需迅速干燥可采用烤箱(100~105℃)烘烤或在电炉和酒精灯上烘烤。但对容量仪器如吸管、容量瓶、比色杯,严禁使用烘烤干燥,可使用酒精、乙醚等有机溶剂去除容器表面的水分,晾干。

三、特殊污物的清洗

1. 蛋白质污物 45%~50% 尿素为除蛋白质的良好溶剂,10% NaOH 热溶液也可除去蛋白质。

2. KMnO_4 痕迹 加几滴浓硫酸后,再加 5% 草酸溶液。

3. 油脂类污物 有机溶剂如丙酮、乙醇、乙醚等,可用于洗脱油脂、脂溶性染料等污痕,也可用 5%~10% 磷酸钠溶液对油污物进行处理。

4. 金属污物 5% HNO_3 和稀 HCl 对除去金属和金属氧化物效果较好,这与生化酶学实验对仪器要求很高的清洁度较适合。

四、塑料器皿的清洗

实验常用的塑料器材如微量离心管、吸头等,不易清洗,而且成本低廉,因此多为一次性物品,用毕即可丢掉。另外,组织培养使用的塑料器皿,是一种无毒并已经过灭菌密封包装的产品,只要打开包装使用即可,是一次性使用物品。如要重复使用,可在用后立即浸入水中,用脱脂棉擦去附着物,自来水冲洗干净后,再用 2% NaOH 溶液浸泡过夜;自来水充分冲洗,然后用 5% HCl 溶液浸泡 30 分钟,再先后用自来水冲洗和蒸馏水冲洗干净。

塑料器皿不能用高压消毒,可用 75%乙醇冲洗后,放置于超净台中,紫外灯照射下,晾干备用。大量消毒应装入袋中用射线消毒。

五、刻度吸管的使用

1. 刻度吸管的种类 生化常用的刻度吸管有两种类型:一种是全流出式吸管。此吸管刻度标至尖端,容量包括液体全部,放液时,需将管尖残留液体吹出。这种吸管在管的上端标有“吹”字。另一种是完全流出式的刻度吸管,此管在放液时,让液体自然流出,尖端在试管内壁停留几秒钟,所余液体不得吹出。这种吸管在管的上端标有“快”字,表明此吸管已校正过尖端残留液体的误差,故不能吹出管尖残留液体。

为了便于准确、快速选取所需的吸管,国际标准化组织统一规定,在刻度吸管的上方要印有各种彩色环,以示容积区别(表 1-1):

表 1-1 刻度吸管彩色环与标准容量

	标准容量(ml)						
	0.1	0.2	0.5	1	2	5	10
色标	红	黑	红、绿	黄	黑	红	橘红
环数	单	单	双、单	单	单	单	单

2. 刻度吸管的使用

(1) 根据需要选择适合的吸管,其容量最好等于或稍大于取液量。用前需看清容量和刻度。

(2) 用右手拇指及中指(辅以无名指),拿住吸管上端,如图 1-1。

(3) 左手捏压洗耳球,将吸管伸入所取试剂液面下,将洗耳球的下端出口对准吸管上口,将液体轻轻吸上,至高于刻度线上端 1~2cm 处,迅速用食指按紧管口,使液体不会从管下口流出。

(4) 将吸管从溶液中取出后,如果是黏性较大的液体如血清,必须先用滤纸擦干净管尖外壁上的液体,然后用食指控制使液体至所需刻度。



图 1-1 刻度吸管的使用

(5) 调好刻度,要求三点一线,即视线、液体凹面、刻度线在同一水平面。

(6) 将吸好的液体移入所用容器内,将吸管尖靠在容器内壁上,松开右手食指让溶液自然流下,放液后吸管尖端残留的液体,应视所选用的吸管要求而定,需要吹的则将其吹出;如果要求不吹的则让吸管尖端靠内壁停留几秒钟,同时转动吸管,重复一次。

六、可调式微量移液器的使用

可调式微量移液器,是为了精确量取微量液体的仪器。一般分为 1~5 μ l、5 μ l、10 μ l、20 μ l、25 μ l、50 μ l,最大到 1000 μ l,可根据需要选择合适体积。其基本结构和原理是一样的,即通过按动芯轴排出空气,将前端安装的吸头置于液体中,放松对按钮的按压,靠内置弹簧机械力,按钮复原,形成负压,吸引液体。

1. 操作方法

(1) 将吸液嘴套在移液器管头上，轻轻转动，以保证密封。

(2) 垂直地握住移液器，用拇指将按钮按到第 1 挡位置(图 1-2)，并把吸液嘴浸入到液面下几毫米处，再缓慢地放松按钮，使之复位，等待 1~2 秒钟后从液体中取出。

(3) 将吸液嘴移至加样容器壁上，缓慢地把按钮按到第 1 挡位置，等待 1~2 秒钟，再把按钮完全按下(即按到第 2 挡位置)，排尽全部液体后，吸液嘴应沿容器壁向上滑动取出，再放松按钮，使之复位，即完成一次操作过程。如果发现吸液嘴尖口处仍残留液体时，则应将吸液嘴接触受器内壁，使液体沿壁流下，同时拇指不能松开。

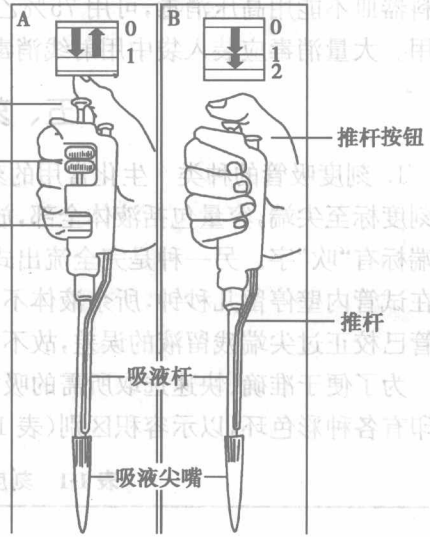


图 1-2 微量移液器的使用

2. 使用注意事项

(1) 选择适宜的吸液嘴: 吸液嘴有很多规格, 使用前要插紧, 吸出液体后, 吸液嘴内的液体不应自动流出, 否则吸液嘴不合适或移液器出现故障。

(2) 按钮移动速度过快: 造成吸液嘴内形成气窝, 影响吸入液体的量, 有时会使液体冲入移液器内, 腐蚀了内部垫圈或弹簧, 造成吸液不准确, 严重时不能吸入液体。

七、溶液的混匀、加热、保温及冷却

1. 溶液的混匀有以下 8 种方法:

(1) 甩动法: 常用方法。适用于试管中液体较少时, 用右手持试管上部, 轻轻甩动、振荡可以将液体混匀。

(2) 敲法: 右手持管上部, 将试管的下部在左手掌心弹敲。适用于微量试管液体的混匀。

(3) 转法: 右手反向握住试管上端, 五指紧握试管, 利用腕力使试管向一个方向做圆周运动, 使管内液体旋转而混匀。适用于试管中液体较多时或小口器皿。

(4) 吸附管混匀法: 用清洁的吸管将溶液反复吸放多次, 使溶液混匀。适用于成倍稀释液体时。

(5) 倒转法: 用大拇指隔着干净玻璃纸堵住管口, 上下倒转数次, 就可使液体充分混匀。适用于液体较多, 且损失少量液体不影响结果。

(6) 旋涡混旋器混匀法: 手持容器上端于混旋器上, 振荡混匀。适用于量大或要求混匀时间较长的溶液。

(7) 玻璃棒搅匀法: 如用上述方法不能使液体混匀, 可用玻璃棒混匀。

(8) 磁力搅拌器混匀法: 适用于酸碱自动滴定等。

2. 溶液的加热、保温

(1) 水浴恒温箱:通过调节水浴箱内水的温度,将样品放置其中以达到实验所需温度。这种将样品直接浸在水中,使样品的温度很容易达到设定的温度。水浴式恒温箱多用于 37°C ,1~2小时,不适宜过夜等长时间连续使用。

(2) 空气箱:恒温箱的空气温度可以调节,样品放置在一定温度的空气中,因空气是传导温度的介质,样品达到设定温度所需时间较长,所以适用于需要长时间保温的样品,如大肠杆菌的培养。

(3) 恒温摇床(恒温振荡器):水平旋转式振荡器,多用于菌的扩增。跷板式振荡器多用于电泳凝胶染色和脱色。

第三节 常用实验仪器的使用

一、LD5-2A 离心机的使用方法

1. 转速范围 0~3800rpm

2. 可控时间 0~60分钟

3. 使用方法

(1) 将所离心的液体移入离心管中,把离心管插入离心桶内。

(2) 用天平调节平衡。

(3) 将平衡后的两个离心桶对称插入离心机托架上,盖好仪器盖。

(4) 开启电源 POWER 按钮,指示灯亮。

(5) 设定时间 TIME 旋钮 0~60分钟。

(6) 按 START 按钮后,缓慢调 SPEED 旋钮至所需转速。

(7) 离心结束后,使 SPEED 还原到 0 位置,取出离心桶。

(8) 盖好仪器盖,关闭电源 POWER 按钮,把离心桶倒置在桌面上。

4. 注意事项

(1) 最高转速为 4000rpm,通常使用最高转速为 3800rpm。

(2) 平衡后的两个离心桶必须对称插入离心机托架上,并盖好仪器盖。

(3) 调转速应平稳缓慢,即缓慢顺时针调 SPEED 旋钮至所需转速。

(4) 离心结束后,使 SPEED 还原,取出离心桶,并倒置于桌面上。

(5) 将使用时间、转速及使用状况登记在使用记录本上。

二、722 型分光光度计的使用方法

1. 开启电源,指示灯亮,选择开关置于“T”,选择所需波长,打开比色室盖子,仪器预热 20分钟。

2. 调节“O”旋钮,使数字显示“00.00”。

3. 将待测溶液倒入比色皿中(约皿高的 2/3),并插入比色皿架上(依次为空白管、标准管、样品管),放入比色室内托架上,使空白管对准光路。

4. 盖上比色室盖,调节透光度“100%”旋钮,使数字显示为“100.0”。

5. 重复 2,4 步骤一次,仪器即可进行测定工作。

6. 吸光度 A 的测定 将选择开关置于“ A ”,调节消光零旋钮,使数字显示为“0.000”,然后依次将被测样品移入光路,显示值即为被测样品的吸光度值。

7. 浓度 C 的测量 选择开关由“ A ”旋至“ C ”,将已标定浓度的样品放入光路,调节浓度旋钮,使数字显示为标定值,将被测样品移入光路,显示值即为被测样品的浓度。

8. 比色完毕,将选择开关置于“ T ”,打开盖,取出比色皿,倒出液体,洗净比色皿,最后操作的同学,关掉电源。

三、752 紫外光栅分光光度计的使用方法

1. 将灵敏度旋钮调置“1”挡(放大倍率最小)。

2. 按电源开关(开关内 2 只指示灯亮)。钨灯点亮,按“氢灯”开关(开关内左侧指示灯亮);氢灯电源接通,再按“氢灯触发”按钮(开关内右侧指示灯亮);氢灯点亮。仪器预热 30 分钟。

注:仪器后背部有一只“钨灯”开关,如不需要用钨灯时,可将它关闭。

3. 选择开关置于“ T ”。

4. 打开样品室盖(光门自动关闭),调节“0%”(T)旋钮,使数字为“000.0”。

5. 将波长置于所需要测定的波长。

6. 将装有溶液的比色皿放置于比色皿架中。
注:波长在 360nm 以上时,可以用玻璃比色皿,波长在 360nm 以下时,用石英比色皿。

7. 盖上样品室盖,将参比溶液比色皿置于光路,调节透过率“100”旋钮,使数字显示为 100.0%(T),如果不到 100.0%(T),则可适当增加灵敏度的挡数,同时应重复第“4”步,调整仪器的“000.0”。

8. 将被测溶液置于光路中,数字显示器上直接读出被测溶液的透过率(T)值。

9. 吸光度 A 的测量 参照“4”和“7”,调整仪器的“000.0”和“100.0”。将选择开关置于“ A ”。旋动吸光度调整旋钮,使得数字显示为“0.000”,然后移入被测溶液,显示值即为试样的吸光度 A 值。

10. 浓度 C 的测量 选择开关由“ A ”旋至“ C ”,将已标定浓度的溶液移入光路,调节“ C ”旋钮使得数字显示为标定值。将被测溶液移入光路,即可读出相应的浓度。

11. 如果大幅度改变测试波长时,需要等数分钟后,才能正常工作。因波长由长波向短波或短波向长波移动时,光能量急剧变化,使光电管受光后响应缓慢,需一段移光响应平衡的时间。

12. 仪器在使用时,应常参照操作方法中“4”和“7”进行“000.0”和“100.0”的工作。

13. 每台仪器所配套的比色皿不能与其他仪器上的比色皿单个调换。

14. 本台数字显示后背部带有外接插座,可输出模拟信号。插座 1 脚为正,2 脚为负接地线。

15. 对由于在运输过程中引起光源偏移和吸光度斜率的偏移,可按说明书所示调整。