

高等医学院校改革创新教材

# 医学基础实验教程

(供医学类本科各专业学生使用)

- 总主编 李著华
- 副总主编 张春来
- 主 审 曾晓荣

# 生物化学与分子生物学 实验分册

主 编 李 洪



人民卫生出版社

图例 (CIP) 目美图查并图

高等医学院校改革创新教材

供医学类本科各专业学生使用

医学基础实验教程

# 生物化学与分子生物学 实验分册

主 编 李 洪

副主编 杨 焯 刘友平

编 者 (以姓氏笔画为序)

于海清 刘友平 李 洪

杨 焯 曾凡才

医学基础实验教程  
生物化学与分子生物学实验分册

主 编 李 洪

出版发行：人民卫生出版社（中图分类：R3-33） ISBN 978-7-117-10431-1

地 址：北京市丰台区右安门外大街3号

邮 政 编 号：100078

网 址：<http://www.puph.com>

E-mail: [puph@puph.com](mailto:puph@puph.com)

电 话：010-62522294 010-62521830

印 刷：三河市富华印刷有限公司

经 销：新华书店

开 本：787×1092 1/16 印 张：8.25

字 数：300千字

版 次：2008年8月第1版 2008年8月第1次印刷

书 号：ISBN 978-7-117-10431-1 R·10431

定 价：24.00元

版权所有，侵权必究。打击盗版举报电话：010-62522294

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

医学基础实验教程 生物化学与分子生物学实验分册 /  
李洪主编. —北京: 人民卫生出版社, 2008. 8

ISBN 978-7-117-10420-3

I. 医… II. 李… 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. R-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 104975 号

学博生于食己学外博生  
册合编实

李洪 主

平文欣 教 编 主 编

(平文欣 李洪 平文欣)

李洪 平文欣 李洪

李洪 教 编

医学基础实验教程

生物化学与分子生物学实验分册

主 编: 李 洪

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](http://www.pmph.com)

E - mail: [pmph @ pmph. com](mailto:pmph@pmph.com)

购书热线: 010 - 67605754 010-65264830

印 刷: 三河市宏达印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 8.75

字 数: 200 千字

版 次: 2008 年 8 月第 1 版 2008 年 8 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978 - 7 - 117 - 10420 - 3 / R · 10421

定 价: 24.00 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)

# 《医学基础实验教程》编写说明

随着医学教育改革的深入,医学人才培养模式明显转变,实验教学开始摆脱了附属理论教学地位,逐步形成自身的教学体系,过去按单科设置的实验课程和千篇一律的验证性实验,已不完全适应现代医学教育发展和创新医学人才的培养。实验教学不仅要与理论教学和临床教学紧密结合,而且要有独自的教学平台和教学体系,重在培养学生的实践能力、专业能力、科研思维 and 创新能力。

实验教学示范中心建设是当前深化实验教学改革的重要途径,实验教材建设则是保证这项改革顺利实施的基本条件。我院在进行示范中心建设过程中,对基础医学的实验设施、实验条件和实验手段进行资源优化配置,建立了医学基础实验教学中心,下设六个实验教学平台。并对基础医学实验教学内容,按照现代医学人才培养要求和构建医学基础实验教学体系的思路进行重组,把医学专业基础阶段的实验教学内容分为基本性实验、综合性实验和研究性实验三类。基本性实验主要开设与理论教学密切相关的经典实验,着重培养学生的基本理论、基本知识、基本技能和专业能力;综合性实验主要为融合相关学科知识而开设的实验,重在培养学生的思维方法和综合运用所学知识分析问题、解决问题的能力;研究性实验是由带教老师或学生提出问题,学生查阅文献提出初步实验方案,在教师指导下充分讨论确定最终实验方案、进行实验操作,记录分析实验结果,写出实验报告或研究报告,主要培养学生的严谨作风、科研思维 and 创新能力。

在进行上述改革的基础上,学院组织教学一线的专家教授编写了这套《医学基础实验教程》作为医学类专业本科生、研究生的实验教学用书。全书分为六个分册,即《医学化学实验分册》、《人体解剖学实验分册》、《病原生物学与免疫学实验分册》、《生物化学与分子生物学实验分册》、《医学形态学实验分册》和《医学机能学实验分册》。包括了实验基本要求,基本知识、基本技术操作和三类实验内容。在实验内容编排上采用基本-综合-研究的顺序,由浅入深、循序渐进,结构新颖,内容丰富,适用面广,是推进实验教学改革的实验教学改革和实验教学示范中心建设的一部配套教材。为了扩大本书的涵盖面,书中编写的实验内容突破了现阶段医学院校本科医学专业开设的实验教学内容,各校可根据自己的教学实际选用本教程。

由于实验教学改革的不断深入发展的长期任务,目前尚处于探索阶段,没有现成模式可循,因此,编写这样的实验教学改革教材仅仅是一种尝试,并且各层次学校、各学科间差异较大,加之笔者水平有限,不足之处在所难免,敬请同行专家批评指正。

编委: 李著华 李再平 孙春焱 袁大森

主编: 李著华

副主编: 李再平 孙春焱 袁大森

2008年5月5日

# 《医学基础实验教程》编写人员

总 主 编 李 著 华

副总主编 张 春 来

主 审 曾 晓 荣

## 医学化学实验分册

主 编 王 钦

副主编 杜 军 杜 曦

## 人体解剖学实验分册

主 编 萧 洪 文

副主编 余 崇 林 王 继 丰

## 生物化学与分子生物学实验分册

主 编 李 洪

副主编 杨 焯 刘 友 平

## 医学形态学实验分册

主 编 龙 汉 安 税 青 林

副主编 郭 勇 唐 学 清

## 病原生物学与免疫学实验分册

主 编 张 育 华

副主编 王 光 西 邬 于 川

## 医学机能学实验分册

主 编 冯 志 强 肖 顺 汉

副主编 秦 大 莲 赵 春 玲 邹 平 冉 兵

# 前 言

生物化学与分子生物学是当今生命科学中最活跃的分支学科之一，也是一门实践性很强的科学。绝大部分生物化学与分子生物学的基本理论和基本知识，均源自于实验性研究结果。因此，学习和掌握一定的生物化学与分子生物学实验技术与方法，对于理解和领会生物化学与分子生物学课程的相关内容，培养科学的思维方法是十分重要的。

本书是一本高等学校生物化学与分子生物学实验教材，主要以医学院校有关专业本科生为对象，也可供其他医学及生物化学与分子生物学工作者参考。全书内容分为实验技术与方法、基本实验、综合性实验、设计性实验和附录五个部分。实验技术与方法部分对一些常用的生物化学与分子生物学实验的相关理论和方法进行了较系统和全面的阐述；基本实验部分选编了一些重要的、与经典生物化学和分子生物学密切相关的实验内容，包括蛋白质的分离纯化与鉴定实验、核酸的分离纯化与鉴定实验以及物质代谢实验等，淘汰了大部分的临床检验及验证性实验；综合性实验部分选编了一些需要综合性理论及技术方法才能完成的实验内容；而设计性实验部分则主要是提供一些可以进行实验方案设计的实验内容，以培养学生的创新能力，适应实验教学改革及本学科实验技术不断发展的要求。

在本书的编写过程中，得到了泸州医学院生物化学教研室和医学分子生物学实验室王丽、刘秋均、陈川宁、张春燕、郑小莉、周志远、段春燕、姚富丽、梅志强等老师的支持和帮助，在此一并致以衷心的感谢。

由于编者水平所限，书中可能会存在一些错误，欢迎使用本书的教师、实验技术人员、学生及其他读者批评指正。

编 者

2008年3月

# 实验须知

## 一、实验目的

1. 通过实验掌握生物化学实验技术的基本原理、基本操作和研究方法，并为今后的临床医学和实验医学打下基础。
2. 通过实验所得结果，加深对生物化学基本理论和基本知识的理解。
3. 通过实验培养实事求是的工作作风，树立对科学研究的严谨态度及训练正确的科学思维方法。

## 二、实验要求

1. 实验前应做好预习。通过预习着重了解本次实验的目的和要求、实验原理及主要操作步骤，特别要弄清楚实验设计的原理；并计划好完成整个实验需使用的仪器设备、操作程序及大致的时间分配，做到心中有数，避免盲目机械地按实验指导操作。

2. 在实验过程中必须保持整洁安静，严肃认真专心地进行实验操作，细致地观察实验现象，获得准确的实验结果，并得出正确的结论，按时完成并上交实验报告。

## 三、实验原始记录及实验报告

除实验报告本外，每位学生必须自备一个实验原始记录本，所有观察的实验现象及实验原始数据必须如实记录在原始记录本上。做实验不能无记录或仅仅凭印象来描述结果，也不能随手用碎纸记录，这关系到一种良好的科学习惯的培养。

实验报告的内容应包括实验题目、日期、协作者、原理、主要操作步骤及观察结果、解释及结论。报告应该在理解实验内容的基础上进行书写，字迹端正整洁，内容简明扼要，不要照抄实验指导。报告一般应于当天送交指导教师，教师将批阅报告并登记入册，作为本课程的考核成绩之一。因此，不能无故缺交实验报告。

## 四、实验室规则

1. 自觉遵守课堂纪律，维护课堂秩序，不迟到，不早退，不在实验室内大声谈笑，保持实验室安静。严禁在实验室内吸烟或吃零食。

2. 实验过程中应听从教师的指导或安排，认真按照操作规程进行实验。完成实验后，须经指导教师同意才能离开实验室。

3. 爱护仪器设备，尽量避免破损。若不慎损坏了仪器或引起仪器故障，必须及时报告指导教师进行处理，不得擅自进行检修或强行操作。普通玻璃器材若有损坏，须经指导教师同意后，方可到实验准备室换领，并按学校规定适当赔偿。未经许可，不得将任何实验器材带离实验室。

4. 保护实验台面，不要将高温试管直接放在台面上，切勿将强酸、强碱等试剂洒在台面上；易燃有机试剂，如乙醇、丙酮等不得直接明火加热，切记注意安全。

5. 注意节约使用药品、蒸馏水、自来水和电。公用试剂必须用洁净的移液管或吸量管吸取，用完试剂后应及时将瓶盖盖好，放回原处。千万不要乱扔乱放，以免影响别人做实验。

6. 废弃液体必须按规定用自来水稀释后，才能经下水道排放，不得将废弃液体随意乱倒；固体废物应倒入垃圾箱内；实验动物应放在指定的地点回收。

7. 实验结束后，所用的玻璃器材必须清洗干净，才能交由室长回收。

8. 每个实验室选出一名室长，负责实验室有关工作。如负责在实验前领取实验仪器，并于实验后负责收集归还。开学时应排出卫生值日，每次实验完毕后，值日生应负责打扫实验室，并检查门窗水电等保安工作。

9. 以上各项实验室规则遵守情况均记入实验考核成绩中。

### 主要规章

实验室规章，主要指由本实验室制定并执行的规章制度。包括实验室安全、卫生、设备使用、药品管理、废弃物处理等方面。这些规章是实验室正常运行的基础，也是保障师生人身安全和财产安全的重要措施。实验室应建立健全各项规章制度，并定期组织师生学习，确保人人知晓、人人遵守。

### 实验室安全规章制度

实验室安全规章制度，是指为保障实验室安全运行而制定的一系列规章制度。主要包括实验室安全准入制度、实验室安全培训制度、实验室安全考核制度、实验室安全应急预案等。这些制度旨在提高师生的安全意识和自我保护能力，预防和减少实验室事故的发生，确保实验室的安全稳定运行。

### 实验室安全

实验室安全，是指实验室在运行过程中，能够有效预防和控制各种安全风险，保障师生人身安全和财产安全的状态。实验室安全涉及面广，包括实验室环境安全、实验室设备安全、实验室药品安全、实验室废弃物处理安全等方面。实验室应建立健全安全管理体系，加强安全教育和培训，提高师生的安全意识和自我保护能力，确保实验室的安全稳定运行。



# 目 录

34	.....	1
38	.....	1
40	.....	1
41	.....	1
42	.....	1
<b>实验须知</b> .....		1
<b>第一章 实验技术与方法</b> .....		1
<b>第一节 基本实验操作</b> .....		1
1.1	一、玻璃仪器的洗涤和干燥.....	1
1.2	二、常用普通仪器及其使用.....	2
1.3	三、液体混匀法.....	5
<b>第二节 分光光度技术</b> .....		6
2.1	一、基本原理.....	6
2.2	二、分光光度计的结构和工作原理.....	9
2.3	三、常见分光光度计.....	10
2.4	四、扫描光密度计.....	13
2.5	五、测定物含量的计算方法.....	13
<b>第三节 层析技术</b> .....		15
3.1	一、纸层析.....	16
3.2	二、薄层层析.....	17
3.3	三、离子交换层析.....	17
3.4	四、凝胶层析.....	19
3.5	五、高效液相层析.....	21
3.6	六、气相层析.....	21
3.7	七、亲和层析.....	21
<b>第四节 电泳技术</b> .....		22
4.1	一、基本原理.....	22
4.2	二、影响电泳的因素.....	24
4.3	三、电泳的分类.....	26
4.4	四、电泳仪器设备简介.....	27
4.5	五、几种常见的电泳.....	27
4.6	六、电泳技术的应用.....	31
4.7	七、PAGE 结果不正常现象与对策.....	32
<b>第五节 离心分离技术</b> .....		33
5.1	一、基本原理.....	33

二、离心机的分类和使用方法 .....	34
三、特殊的离心分离技术 .....	38
第六节 核酸与蛋白分析技术 .....	40
一、聚合酶链式反应技术 .....	40
二、Southern 印迹杂交技术 .....	42
三、Northern 印迹杂交技术 .....	43
四、Western 印迹法 .....	43
<b>第二章 基本实验</b> .....	44
第一节 氨基酸、蛋白质与酶 .....	44
实验一 蛋白质含量的测定 .....	44
实验二 血清蛋白的醋酸纤维素薄膜电泳及定量分析 .....	49
实验三 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定蛋白质分子量 .....	52
实验四 蛋白质印迹免疫分析 .....	57
实验五 血清超薄 SDS-琼脂糖凝胶电泳 .....	59
实验六 凝胶层析分离血红蛋白和维生素 B <sub>2</sub> .....	61
实验七 离子交换层析分离氨基酸 .....	62
实验八 心、肝、肾组织乳酸脱氢酶同工酶的电泳分离 .....	64
实验九 蛋白质的双向电泳 .....	67
第二节 核酸 .....	71
实验十 核酸含量的测定 .....	71
实验十一 DNA 的电泳及限制性内切酶谱分析 .....	74
实验十二 组织细胞基因组 DNA 的提取 .....	77
实验十三 质粒 DNA 的提取与鉴定 .....	79
实验十四 核糖核酸的提取及成分鉴定 .....	82
实验十五 动物组织总 RNA 的提取 .....	84
实验十六 聚合酶链式反应扩增 DNA 片段 .....	85
第三节 物质代谢 .....	87
实验十七 肝糖原的提取与鉴定 .....	87
实验十八 改良赖氏法测定血清 ALT 活性 .....	88
实验十九 二乙酰-脲显色法测定血清尿素氮含量 .....	91
实验二十 肌糖原的酵解作用 .....	93
实验二十一 乳酸脱氢酶及辅酶 I .....	95
<b>第三章 综合性实验</b> .....	98
实验二十二 标准曲线的制作及回收试验 .....	98

实验二十三 血清 $\gamma$ -球蛋白的分离纯化与鉴定 .....	100
实验二十四 碱性磷酸酶的提取和比活性测定 .....	106
<b>第四章 设计性实验</b> .....	<b>110</b>
实验二十五 酶促反应动力学实验的设计 .....	110
实验二十六 PCR 引物设计 .....	115
<b>附录</b> .....	<b>118</b>
一、实验室安全防护及意外事故处理 .....	118
二、实验误差及其产生原因与纠正 .....	119
三、化学试剂纯度分级表 .....	121
四、常用限制性内切酶酶切位点 .....	121
五、质粒 pBR322 的物理图谱 .....	122
六、 $\lambda$ DNA (48502bp) 常用限制性酶切位点 .....	122
七、常用术语英汉对照表 .....	124

# 第一章

## 实验技术与方法

### 第一节 基本实验操作

#### 一、玻璃仪器的洗涤和干燥

##### (一) 洗涤的目的要求

洗涤的目的：①保证玻璃仪器上没有杂质，避免干扰反应。②保证测量体积的读数可靠。

洗涤的要求：洗涤的玻璃仪器清洁透明，水沿器壁自然流下后均匀湿润，不挂水珠。

##### (二) 污染的类型

一般说来，附着在仪器上的污物有：尘土和其他不溶性物质，可溶性物质，有机物质和油垢等。

##### (三) 去污的方法

针对污染类型，可采用以下几种去污方法：

1. 用水和试管刷刷洗，以除去仪器上的尘土、不溶性物质和可溶性物质。
2. 用去污粉、肥皂及合成洗涤剂可洗去有机物质和油垢。若仍洗不干净，可用热碱液洗涤。
3. 用清洁液（或称洗液）洗。称量瓶、洗瓶、容量瓶、吸量管、滴定管等宜用此法。这些容量分析仪器，在使用后应立即泡入清水中，勿使容器内的物质干涸。洗涤时先用自来水冲洗数次，待沥干后，在洗液中浸泡4~6h或浸泡过夜，必要时洗液可加热使用。

用以上方法去污后，用自来水充分冲洗，最后用少量蒸馏水冲洗2~3次。

因洗液具有强腐蚀性，使用时必须注意安全。当洗液由棕红色变成绿色，须回收处理后才能再用。

##### (四) 干燥方法

玻璃仪器常用的干燥方法是将其倒置于晾干架上，让其自然干燥。当急用时，可按以下方法处理。

1. 置于烘箱内干燥。注意取放时要戴隔热手套或使用扁夹，切勿用手直接去拿，因为不仅会弄脏仪器，而且还常因仪器灼热而使其跌落打破。若加温烘烤有刻度的玻璃仪器或塑料制品时，温度不得超过  $60^{\circ}\text{C}$ 。

2. 适当离开酒精灯或喷灯的火焰，边加热边用吸气瓶上的玻璃管抽出容器中的湿空气，以达干燥之目的。

3. 于容器中倒入少量无水乙醇或甲醇，然后再倒出，即可达到干燥的目的，但要注意回收溶剂。

### (五) 特殊容器的处理

具有传染性样品的容器，如病毒、传染病患者的血清等污染过的容器，应先进行高温高压（或其他方法）消毒后再进行清洗；盛过毒品或放射性同位素的容器必须专门处理，确知没有残留物质存在，方可进行清洗。

## 二、常用普通仪器及其使用

### (一) 吸量管 (pipette)

#### 1. 吸量管的种类

(1) 奥氏吸量管：每支吸量管只有一个刻度，管中部为椭圆形隆起。在同一容量的各类吸量管中，以它的容量表面积为最小，故准确度最高，主要用于定量实验和量取黏度较大的液体（图 1-1①）。常用的有 0.5ml、1.0ml、2.0ml 等数种。放液时最后必须吹出残留在管尖的液体。

(2) 移液管：在吸管中部有菱形膨出，每根吸管只有一个刻度，只能量取一定整数体积的液体（如 20ml、10ml、5ml 等）（图 1-1②）。因刻度精确，加上中间有膨出，减少了液体和吸管壁接触的面积，故量液较准确，常作为化学容量分析及定量稀释之用。放液时待管内液体流出后，使吸管尖端在受器内壁上停留 3~5 秒钟，管尖残留液体不得吹出。

(3) 刻度吸量管 (graduated pipette)：是直筒状吸管，其上有多个刻度，刻度有到尖端的和不到尖端的两种，有读数是从下而上的（图 1-1③），也有读数是从上而下的（图 1-1④）。主要用于量取 10ml 以下的任意体积的液体。0.5ml 以下的吸量管，放液时常需将最后残留在管尖的液体吹出；1.0ml 以上的吸量管不应吹出尖端残留液体，应在液体自行流出后使管尖紧靠受器内壁 3~5 秒钟即可。有的吸量管在管尖处有一刻度，在放液时，将吸管内液体放至管尖刻度时为止（图 1-1⑤）。在取量黏度较大的液体时，如全血，在放液过程中一定要缓慢，使红细胞随液体流出，不致黏在吸管内壁上，否则将影响测定的准确性。

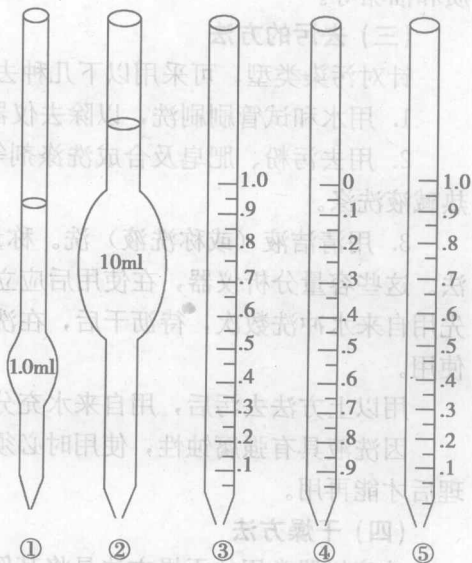


图 1-1 几种不同的吸量管

#### 2. 吸量管的使用方法 三类吸量管除上述

几点不同外，其他操作相同。

(1) 拿法：将中指和拇指拿住吸量管上端，食指堵住管口（图 1-2）。

(2) 取法：将吸量管插入液体中，用洗耳球吸取液体至所需刻度之上，然后，迅速用食指按紧吸量管上端管口，使液体不致从管内流出。

(3) 调刻度：将已充满液体的吸量管提出液面，用干净的碎滤纸片擦干吸量管外面的液体（或将管尖在试剂瓶内壁停靠数秒钟），然后持吸量管与地面保持垂直，适度放松食指控制液体缓慢地下降，刚好至所需刻度（液体凹面、刻度和视线应在同一水平面上）时，立即按紧吸量管上端管口。

(4) 放液：使吸量管尖端轻轻接触受器内壁，然后放松食指，让液体缓慢流入到受器内。

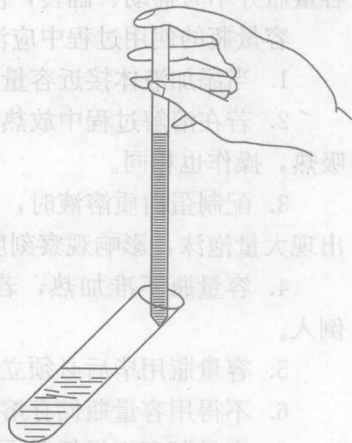


图 1-2 使用吸量管的姿势

### 3. 吸量管的选用原则

(1) 量取整数量液体时，应首先选用奥氏吸量管；若量取的体积较大时可用移液管。

(2) 选用标示刻度与取液量最接近的吸量管。如欲取 0.15ml 液体，应首先选用 0.2ml 刻度吸量管，而不能选用 0.5ml 刻度吸量管。

(3) 在同一系列的定量实验中，如几个试管需加入不同量的同种液体时，要根据加入液体的量酌情选用吸量管。如各管所加入液体的量为 0.2ml、0.4ml、0.6ml 及 0.8ml 时，应选用一支与最大的取液量接近的刻度吸量管，即 1ml 刻度吸量管。但另一种情况却不能这样做，如各管所加入液体的量为 1ml、2ml、5ml 及 8ml 时，则不能选用同一支 10ml 刻度吸量管吸取不同的量加入各管中，而应该分别选用一支 1ml、2ml、5ml 及 10ml 的刻度吸量管或移液管吸取。因为 10ml 刻度吸量管量取 1ml 或 2ml，甚至 5ml 溶液时，因吸管内径太大，其刻度是很难控制准确的。

(4) 当取液量不足吸量管的满刻度时，如用 1ml 刻度吸量管量取 0.6ml 液体时，应使用吸量管上端刻度（指刻度到尖端的吸量管）进行量取，而不用下端刻度。若用 1ml 刻度不到尖端的吸量管，上端或下端刻度都可以使用。

### (二) 量筒 (graduate)

量筒为粗量器，不能用来配制标准溶液，仅能用作粗略地度量液体体积。用量筒时，要根据所量取溶液的多少来选择，不可使用过大的量筒量取较小体积，如用 500ml 量筒量取 5ml 或 10ml 溶液，显然误差太大。读数时，刻度视线必须和溶液凹面成同一水平面，不可过高过低。

### (三) 容量瓶 (volumetric flask)

容量瓶主要用于配制一定体积的溶液，如用于制备标准溶液。瓶颈上有一刻度，加入液体达此刻度时，就相当于瓶上所标明温度（通常为 20℃）下的液体体积。使用容量瓶时，不要把溶质直接倒入容量瓶中再加水至刻度，而应使溶质首先在小烧杯中用少量蒸馏水溶解，再把溶液沿玻棒引入容量瓶。在容量瓶内，可事先加水至体积 2/3 或 1/2。磨口的瓶塞，应事先检查是否漏水。盖上塞子后，用食指或手心顶住瓶塞，倒置

容量瓶并不时摇动、翻转，使溶液充分混匀，然后加水至刻度。

容量瓶的使用过程中应注意以下几点：

1. 当添加液体接近容量瓶刻度时，要换用滴管小心滴加至刻度。
2. 若在溶解过程中放热，则必须待溶液冷至室温后，再倒入容量瓶中。若溶解时吸热，操作也相同。
3. 配制蛋白质溶液时，应将蛋白质溶解后，沿壁缓缓加水至刻度，再混匀，以免出现大量泡沫，影响观察刻度。
4. 容量瓶不准加热，若某物质需加热溶解，则必须事先在烧杯中进行，冷却后倒入。
5. 容量瓶用毕后必须立即洗净，不必烘干。
6. 不得用容量瓶储存溶液，溶液应倒入试剂瓶中储存。
7. 容量瓶塞不得任意更换，用毕后必须垫以纸条，将塞盖好。

#### (四) 锥形瓶 (cone beaker)

锥形瓶亦称三角烧杯，种类和烧杯相似。锥形瓶口较小，便于液体的振荡混匀，常用于滴定或血滤液的制备。

#### (五) 移液器 (pipettor)

1. 原理 移液器是利用排代原理，由活塞在活塞套内作定程运动，产生负压，吸入定量液体。它可以在一定的范围内调节取液装置，其取液量取决于装置内活塞上下的移动距离，该距离可通过调节轮调节。

2. 特点 使用方便，性能可靠。

3. 分类 按是否可以调节取液量分为固定式和可调式，可调式又可分为分挡调节和连续调节两类。按最大取液量多少可分为  $10\mu\text{l}$ 、 $25\mu\text{l}$ 、 $50\mu\text{l}$ 、 $200\mu\text{l}$ 、 $250\mu\text{l}$ 、 $500\mu\text{l}$ 、 $1000\mu\text{l}$ 、 $5000\mu\text{l}$  等多种。

#### 4. 使用方法

(1) 将塑料吸头 (tip) 套在取液器上，轻轻转动，以保证密封。

(2) 使用前应先将移液器吸液和排液几次，以保证腔内外气压一致。

5. 取液方法 使用移液器取用或转移液体试剂的方法有两种。

(1) 前进移液法：垂直地握住移液器，将按钮撇到第一停止点，并把吸头尖浸到液面下  $2\sim 3\text{mm}$ ，再均匀缓慢地放松按钮，使之复位；等待  $1\sim 2$  秒钟后将吸头从液体中取出，并避免碰撞任何东西。将吸头移至加样容器壁上，缓慢地将按钮撇到第一停止点，等待  $1\sim 2$  秒钟，再把按钮完全按下，排尽全部液体后，吸头应沿容器壁向上滑动取出，再放松按钮，使之复位，即完成取液操作过程 (图 1-3)。

(2) 反向移液法：此法一般用于转移高黏液体、生物活性液体、易起泡液体或极微量的液体，其原理就是先吸入多于设置量程的液体，转移液体的时候不用吹出残余的液体。

先按下按钮至第二停点，慢慢松开按钮至原点。接着将按钮



图 1-3 移液器的使用方法

按至第一停点排出设置好量程的液体，继续保持按住按钮位于第一停点（千万别再往下按），取下有残留液体的枪头，弃之。

#### 6. 移液器使用注意事项

(1) 吸取液体时一定要缓慢平稳地松开拇指，绝不允许突然松开，以防将溶液吸入过快而冲入取液器内腐蚀柱塞而造成漏气。

(2) 为获得较高的精度，吸头需预先吸取一次样品溶液，然后再正式移液，因为吸取血清蛋白质溶液或有机溶剂时，吸头内壁会残留一层“液膜”，造成排液量偏小而产生误差。

(3) 浓度和黏度大的液体，会产生误差，为消除其误差的补偿量，可由试验确定，补偿量可用调节旋钮改变读数窗的读数来进行设定。

(4) 可用分析天平称量所取纯水的重量并进行计算的方法，来校正取液器，1ml 蒸馏水 20℃ 时重 0.998 2g。

(5) 移液器反复撞击吸头来上紧的方法是非常不可取的，长期操作会使内部零件松散而损坏移液器。

(6) 移液器未装吸头时，切莫移液。

(7) 在设置量程时，请注意所设量程在移液器量程范围内。不要将按钮旋出量程，否则会卡住机械装置，损坏移液器。

(8) 移液器严禁吸取有强挥发性、强腐蚀性的液体（如浓酸、浓碱、有机物等）。

(9) 严禁使用移液器吹打混匀液体。

(10) 不要用大量程的移液器移取小体积的液体，以免影响准确度。同时，如果需要移取量程范围以外较大的液体，请使用移液管进行操作。

(11) 在调节目程时，如果要从大体积调为小体积，则按照正常的调节方法，逆时针旋转旋钮即可；但如果要从小体积调为大体积时，则可先顺时针旋转刻度旋钮至超过量程的刻度，再回调至设定体积，这样可以保证量取的最高精确度。

(12) 如不使用，要把移液枪的量程调至最大值的刻度，使弹簧处于松弛状态以保护弹簧。

(13) 使用完毕，可以将其竖直挂在移液器架上，但要小心别掉下来。当移液器枪头里有液体时，切勿将移液器水平放置或倒置，以免液体倒流腐蚀活塞弹簧。

### 三、液体混匀法

#### (一) 试管内液体

如何使试管或离心管中先后加入的数种试剂充分混匀，是生物化学与分子生物学实验中最常用的基本操作。通常有以下几种混匀方法。

1. 旋转法（使试管作圆周运动） 液体较多时常用品法。右手拿试管上端，利用手腕力量使试管作圆周运动。顺时针或逆时针转动均可，但必须一个方向 [图 1-4 (a)]。

2. 指弹法 左手持试管上端，使试管大致垂直于地面，再用右手食指轻轻弹动试管（即右手食指与试管壁成切线运动），使管内液体呈漩涡状转动。液体较少时可采用此法 [图 1-4 (b)]。

3. 甩动法 右手握住试管上端，将试管倾斜来回迅速甩动，使管内液体呈漩涡状



转动。此法只适用于少量液体的混匀。

4. 玻棒搅动法 适用于烧杯、量筒内容物的混匀。如固体试剂的溶解和混匀。

5. 吸量混匀法 用吸量管将溶液反复吸放数次，使溶液充分混匀。

6. 颠倒混匀法 适用于有塞的容量瓶及有塞试管内容物的混匀。一般试管内容物混匀时可用聚乙烯等薄膜封口，再用手按住管口颠倒混匀。

### (二) 容量瓶内液体

在容量瓶中混匀液体时，先盖上塞子，用手指或手心顶住瓶塞，再倒持容量瓶，旋转混匀，并反复倒转数次。

### (三) 锥形瓶或烧杯内液体

一般用旋转混匀法。烧杯内液体的混匀可用旋转法也可用玻棒搅拌法，即用洁净玻棒在液体中不断搅拌、打旋以加速液体的混匀或溶质的溶解。

以上是生物化学与分子生物学实验中常用的几种容器内液体混匀方法，此外还有倾注混匀法、磁力搅拌混匀法等，不一一详细介绍。

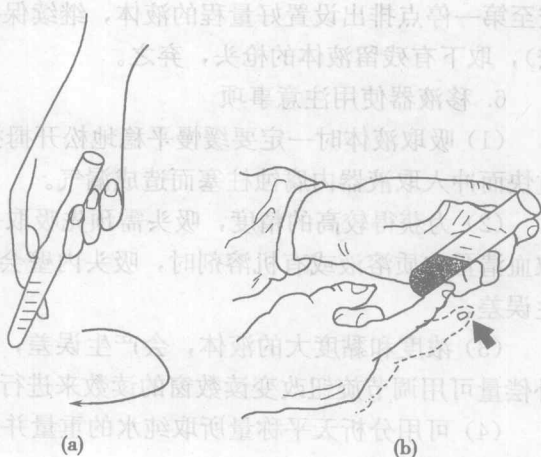


图 1-4 液体混匀法

## 第二节 分光光度技术

分光光度法 (spectrophotography) 是利用物质特有的吸收光谱来鉴别物质或测定其含量的一项技术。由于分光光度法灵敏度强、精确度高、操作简便快速，对于复杂的组分系统，无需分离即可检测出其中的微量组分，因此已成为生物化学研究中广泛使用的方法之一。

### 一、基本原理

光线的本质是电磁波的一种，有与电磁波和 X 射线类同的性质。光线有不同的波长，肉眼可见彩色光称为可见光 (visual light)，波长范围在 400~750nm，小于 400nm 的光线称为紫外线 (ultraviolet rays)，大于 750nm 的光线称为红外线 (ultrared rays)。如表 1-1 所示。可见光区的电磁波因波长不同，呈现出不同的颜色，这些不同颜色的电磁波称为单色光。

一切物质都会对某些波长的光进行选择性的吸收，有色溶液之所以呈现不同颜色，就是由于物质对光的选择性吸收所致。某些无色物质虽然对可见光无吸收作用，但也能选择性地吸收特定波长的紫外线或红外线。物质的吸收光谱与它们本身的分子结构有关，不同物质由于其分子结构不同，对不同波长光线的吸收能力也不同。因此每种物质都具有其特异的吸收光谱，在一定条件下，其吸收程度与该物质浓度成正比，故可利用各种物质不同的吸收光谱特征及强度对不同物质进行定性和定量分析。