



全国高校素质教育教材研究编审委员会审定

“十一五”国家重点图书出版规划教材

医学生物化学与分子生物学 实验技术

姜广建 徐建余 主编
张秀军 主审



 军事医学科学出版社

全国高校素质教育教材研究编审委员会审定
“十一五”国家重点图书出版规划教材

医学生物化学与分子生物学 实验技术

姜广建 徐建余 主编
张秀军 主审

100-35-327

4107-33

军事医学科学出版社

· 北 京 ·

图书在版编目(CIP)数据

医学生物化学分子生物学实验技术/姜广建,徐建余主编.

-北京:军事医学科学出版社,2008.8

ISBN 978-7-80245-135-3

I. 医… II. ①姜… ②徐… III. ①医用化学:生物化学-实验-医学院校-教材 ②医药学:分子生物学-实验-医学院校-教材
IV. Q5-33 Q7-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第120376号

出 版:军事医学科学出版社

地 址:北京市海淀区太平路27号

邮 编:100850

联系电话:发行部:(010)63801284

63800294

编辑部:(010)66884418,86702315,86702759

86703183,86702802

传 真:(010)63801284

网 址:<http://www.mmsp.cn>

印 装:京南印刷厂

发 行:新华书店

开 本:787mm×1092mm 1/16

印 张:7

字 数:130千字

版 次:2008年9月第1版

印 次:2008年9月第1次

定 价:20.00元

本社图书凡缺、损、倒、脱页者,本社发行部负责调换

医学生物化学与分子生物学实验技术

审定专家组名单

组 长：尹占国

副组长：李恒光 康熙雄 胡良平

组 员：任天池 钱超尘 王伯初

编写组名单

主 编 姜广建 徐建余

副主编 贺宝玲 史文慧

主 审 张秀军

参 编 崔和勤 孟丽军 曹 蕾 何 冰

林 佳 曹向可 陈 阳 赵丽娜

刘 岩 宁树成 肖永红 王翠民

李巍伟

前 言

生物化学和分子生物学在生命科学领域的各基础学科中居于领先地位，其发展速度十分迅速，被国家教委列为高等医学院校的主干学科。

本书包括实验室基本知识、基本实验技术、生物化学实验和分子生物学实验四部分。第一部分和第二部分是生物化学基本技术及应用，突出生物化学四个基本技术的原理、应用及使用方法，使学生了解并初步掌握生物化学基本实验技术和技能；第三部分是生物化学基本实验，所选实验与规划教材相匹配，突出定量概念，为从专业基础课向专业实验课过渡奠定了基础，实验重在结合专业特色，体现课程实验技术的应用，训练科学研究素质，激发学生的创新性思维；第四部分分子生物学实验是在前面生物化学实验的基础上，通过较系统的训练，进一步培养学生的逻辑思维、综合应用及动手操作等能力，从而形成学生实践技能和科研思维培养体系。本教材着眼于生物化学最基本的方法以及培养同学们的动手能力，注重对学生科研素质的培养。

在学习和使用本书过程中，同学们可根据自己的实际情况，将实验课程和理论课程相互联系，以便迅速提高自己的整体知识水平。

本书编写过程中华北煤炭医学院生物科学系领导们给予了巨大的支持和鼓励，并提出了许多宝贵意见和建议，在此一并致以衷心感谢。由于编写时间紧迫，疏漏和错误在所难免，在使用过程中如发现不妥之处，敬请读者批评指正。

目 录

第一部分 实验室基本知识	1
一、实验室规则	1
二、实验报告	2
三、实验室基本操作	3
四、实验样品的制备	7
第二部分 基本实验技术	11
一、生物大分子的基本制备技术	11
二、分光光度法 (Spectrophotometry)	13
三、层析技术 (chromatography)	18
四、电泳技术 (electrophoresis)	23
五、离心技术 (Centrifugalization)	27
第三部分 生物化学实验	32
实验一 蛋白质沉淀凝固	32
一、实验材料、器具和试剂	33
二、实验步骤	34
思考与讨论	36
实验二 氨基酸纸层析	37
一、实验器材和试剂	38
二、实验步骤	38
三、结果处理	39
思考与讨论	39
实验三 血清蛋白醋酸纤维素薄膜电泳	40
一、实验器材和试剂	41
二、实验步骤	41
三、临床意义	43
思考与讨论	44

实验四 核酸的提取与鉴定	45
一、实验器材和试剂	46
二、实验步骤	47
思考与讨论	48
实验五 血清丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 活性的测定——赖氏比色法	49
一、实验材料、器具和试剂	50
二、实验步骤	51
思考与讨论	52
实验六 碱性磷酸酶分离纯化及比活性测定	53
一、碱性磷酸酶的分离纯化	54
二、碱性磷酸酶的比活性测定	56
思考与讨论	59
实验七 葡萄糖氧化酶法测定血清 (浆) 葡萄糖	60
一、实验材料、器具和试剂	60
二、实验步骤	61
三、结果计算	61
思考与讨论	61
实验八 脂类的薄层层析	62
一、实验材料、器具和试剂	63
二、实验步骤	63
思考与讨论	63
实验九 酮体的生成和利用	64
一、实验材料、器具和试剂	65
二、实验步骤	65
三、结果处理	66
思考与讨论	66
实验十 血清脂蛋白琼脂糖凝胶电泳	67
一、实验材料、器具和试剂	68
二、实验步骤	68
思考与讨论	69
第四部分 分子生物学实验	70
实验一 感受态细胞的制备 (化学法) 和转化	70
一、实验材料、器具和试剂	71
二、实验步骤	71

三、结果辨析	73
思考与讨论	73
实验二 质粒 DNA 的提取	74
一、实验材料、器具和试剂	75
二、实验步骤	76
三、结果辨析	76
思考与讨论	77
实验三 DNA 琼脂糖凝胶电泳	78
一、实验材料、器具和试剂	79
二、实验步骤	79
三、结果辨析	80
思考与讨论	81
实验四 聚合酶链式反应 (PCR) 体外扩增 DNA	82
一、实验材料、器具和试剂	84
二、实验步骤	84
三、结果辨析	85
思考与讨论	86
实验五 DNA 体外重组、筛选与鉴定	87
一、实验材料、器具和试剂	89
二、实验步骤	90
三、结果辨析	92
思考与讨论	92
实验六 SDS-PAGE 测蛋白质的分子量	93
一、实验材料、器具和试剂	94
二、实验步骤	95
三、结果辨析	96
思考与讨论	97
实验七 WESTERN BLOT 检测蛋白	98
一、实验材料、器具和试剂	98
二、实验步骤	99
三、结果辨析	99
思考与讨论	100

第一部分 实验室基本知识

一、实验室规则

1. 实验前必须认真预习实验内容，明确本次实验的目的和要求，掌握实验原理，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，禁止大声说笑和喧哗。

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。实验时认真进行实验记录，实验完毕及时整理数据，按时上交实验报告。

4. 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，药品称完后立即盖好瓶盖放回药品架，严禁瓶盖及药勺混杂，切勿使药品（尤其是氢氧化钠）洒落在天平或实验台面上，毛刷用后必须立即挂好，各种器皿不得丢弃在水池内。

5. 配制试剂和用无离子水要注意节省，按实验实际使用量配制，多余的重要试剂和各种有机试剂要按教师要求进行回收，价格昂贵的 Sephadex、Sepharese 凝胶和 DEAE 纤维素等，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，注明品名、浓度和日期等，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按比例稀释后排放。电泳后的凝胶和各种废物不能倒入水池，只能倒入废物桶。

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和 HPLC 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. 实验室内严禁吸烟、饮水和进食，严禁用嘴吸移液管和虹吸管。易燃液体不得接近明火和电炉，凡产生烟雾、有害气体和不良气味的实验，均应在通风橱内进行。

10. 实验完毕必须及时洗净并放好各种玻璃仪器，保持实验台面和实验柜内的整洁。

11. 每组的仪器和玻璃器皿要用油漆编号, 严禁使用他组仪器, 不得将器皿遗弃在分光光度计内和其他实验台面上, 打破了玻璃仪器要及时向教师报告, 并自觉登记, 学期结束时按规定进行处理。

12. 每位学生要熟悉实验室内电闸的位置, 烘箱和电炉用毕必须立即断电, 不得过夜使用, 要严格遵守实验室安全用电规则和其他安全规则。

13. 实验完毕, 值日生要认真做好实验室的卫生值日工作。最后离开实验室的实验人员, 必须检查并关好水、电、门、窗。

二、实验报告

(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, 会使整个实验失败, 这也是培养学生实验能力和严谨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, 熟悉实验原理和操作方法, 在记录本上写好实验预习报告, 包括详细的实验操作步骤(可以用流程图表示)和数据记录表格等。

2. 记录本上要编好页数, 不得撕毁和涂改, 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。记录本的左侧页作计算和草稿用, 右侧页作预习报告和实验记录用。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。

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, 切勿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数据的记录, 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。

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、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。二人一组的实验, 必须每人都做记录。

(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。实验报告的格式应为:

1. 实验名称。
2. 目的和要求。
3. 实验原理（简述实验的基本原理）。
4. 实验步骤（可以采用流程图的方式或以表格方式表示）。
5. 数据处理。

6. 结果与讨论：描述实验出现的现象和结果，分析它们所说明的问题，探讨实验成败的关键。阐述对实验设计的改进意见等。对于定量实验列出算式进行计算，并对实验结果进行必要的说明和分析。

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。写实验报告要用实验报告专用纸，以便教师批阅，不要用练习本和其他片页纸。

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什么？是白色、淡黄色或是其他颜色？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，特别注意那些未想到的实验现象是十分重要的，这些观察常常会引起意外的发现，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。

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，一目了然，以便比较。实验作图尤其要严格要求，必须使用坐标纸，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，坐标轴的分度数字要与有效数字相符，并尽可能简明，若数字太大，可以化简，并在坐标轴的单位上乘以 10 的方次。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，充分运用自己学过的知识和生物化学原理，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。

三、实验室基本操作

（一）玻璃仪器的清洗

实验中所用的玻璃仪器清洁与否，将直接影响实验的结果，往往由于仪器的不清洁或被污染而造成较大的实验误差，有时甚至会导致实验的失败。生物化学实验对玻璃仪器清洁程度的要求，比一般化学实验的要求更高。这是因为：首先，生物化学实验中蛋白质、酶、核酸等往往都是以“毫克”或“微克”计算的，稍有杂质，影响就很大。其次，生物化学实验对许多常见的污染杂质十分敏感，如金属离子（钙离子、镁离子等）、去污剂和有机物残留等，因此，玻璃仪器（包括离心管等塑料器皿）是否彻底清洗干净是非常重要的。

1. 初用玻璃仪器的清洗 新购买的玻璃仪器表面常附有游离的碱性物质，

可先用 0.5% 的去污剂洗刷，再用自来水洗净，然后浸泡在 1%~2% 盐酸溶液中过夜（不可少于 4 h），再用自来水冲洗，最后用无离子水冲洗两次，在 100~120℃ 烘箱内烘干备用。

2. 使用过的玻璃仪器的清洗 先用自来水洗刷至无污物，再用合适的毛刷沾去污剂（粉）洗刷，或浸泡在 0.5% 的清洗剂中超声清洗（比色皿决不可用超声清洗），然后用自来水彻底洗净去污剂，用无离子水洗两次，烘干备用（计量仪器不可烘干）。清洗后器皿内外不可挂有水珠，否则应重洗，若重洗后仍挂有水珠，则须用洗液浸泡数小时后（或用去污粉擦洗）重新清洗。

3. 石英和玻璃比色皿的清洗 绝不可用强碱清洗，因为强碱会侵蚀抛光的比色皿。只能用洗液或 1%~2% 的去污剂浸泡，然后用自来水冲洗（这时使用一支绸布包裹的小棒或棉花球棒刷洗，效果会更好），清洗干净的比色皿也应该内外壁不挂水珠。

（二）塑料器皿的清洗

聚乙烯、聚丙烯等制成的塑料器皿，在生物化学实验中应用的越来越多。第一次使用塑料器皿时，可先用 8 mol/L 尿素（用浓盐酸调 pH = 1）清洗，接着依次用无离子水、1 mol/L KOH 和无离子水清洗，然后用 10^{-3} mol/L EDTA 除去金属离子的污染，最后用无离子水彻底清洗，以后每次使用时，可只用 0.5% 的去污剂清洗，然后用自来水和无离子水洗净即可。

（三）洗液的配制

1. 肥皂水、洗衣粉溶液和去污粉，是最常用的洗涤剂，有乳化作用，可除去污垢，能使脂肪、蛋白质及其他黏着性物质溶解或松弛，一般玻璃仪器可直接用肥皂水浸泡或刷洗。

2. 铬酸洗液

（1）原理：铬酸洗液由重铬酸钾（或重铬酸钠）和浓硫酸配制而成，其清洁效力主要应用其强氧化性和强酸性。铬酸越多，硫酸越浓，其清洁效力也就越强，当洗液变绿色后则不宜应用。

（2）配制：称取重铬酸钾 5 g 放于 250 ml 烧杯中，加热水 5 ml 搅拌，使其尽量溶解，烧杯下垫一石棉网以防过热，然后慢慢加入工业用浓硫酸 100 ml，随加随搅拌，尽量避免红色铬酸沉淀析出。此时，溶液由红黄色变成黑褐色。冷却后，储于指定容器内盖紧以防吸水。

（3）使用：应用洗液前必须将玻璃仪器用自来水冲洗数次，并将玻璃仪器上的水分尽量除去，再放入洗液中浸泡，数小时后取出玻璃仪器，用自来水充分冲洗至无洗液为止（冲洗时注意勿将洗液溅出水槽），再用少量蒸馏水冲洗数次，晾干备用。

上述两种洗涤液是最常用的，实验中遇到一些特殊污物，需用针对性强的

洗涤液。

(四) 玻璃和塑料器皿的干燥

生化实验中用到的玻璃和塑料器皿经常需要干燥，通常都是用烘箱或烘干机在110~120℃下进行干燥，而不用丙酮振荡清洗再吹干的方法来干燥，因为那样会有残留的有机物覆盖在器皿的内表面，从而干扰生物化学反应。硝酸纤维素的塑料离心管加热时会发生爆炸，所以严禁放在烘箱中干燥，只能用冷风吹干。

(五) 吸量管的使用

1. 吸量管的分类 吸量管是生化实验中常用的仪器，测定的准确度与吸量管的正确使用密切相关。生化实验常用的吸量管有奥氏吸量管和刻度吸量管两种。

(1) 奥氏吸量管：供准确量取 0.5 ml、1 ml、2 ml 液体时使用。每根吸量管上只有一个刻度，放液时必须吹出最后残留在吸量管尖端的液体。

(2) 刻度吸量管：供量取 10 ml 以下的任意体积的液体时用。每根吸量管上都有许多等分刻度，一般刻度包括尖端部分，欲将所量取液体全部放出时，须将残留管尖的液体吹出。刻度吸量管的规格通常有 0.1 ml、0.2 ml、0.5 ml、1 ml、2 ml、5 ml、10 ml 等 7 种。

2. 吸量管的选取原则

(1) 取整数量液体且吸取量需要准确时，应选用奥氏吸量管如 1 ml、2 ml、5 ml 等。

(2) 选用与取液量接近的吸量管，如欲取 0.15 ml 液体应选用 0.2 ml 而不用 0.5 ml 吸量管。在同一定量试验中，如几个管需要加同一种液体，但其量不同时，应尽量用同一支与最大的取液量接近的刻度吸管。

(3) 若有几个管都是加入 1 ml 的同一液体，可取一支 10 ml 刻度吸管，吸取液体后分别在各管内加入各 1 ml 液体。

3. 刻度吸量管的操作

(1) 选择：使用前先根据根据需要选择适当的吸量管，刻度吸量管的总容量最好等于或稍大于最大取液量。临用前要看清总容量和刻度。

(2) 执管：用拇指和中指（辅以无名指）拿住吸量管上部，用食指堵住管上口和控制液流。刻度数字要朝向自己。

(3) 取液：另一只手捏压橡皮球，将吸量管插入液体内部（不得悬空，以免液体吸入球内），用橡皮球将液体吸至最高刻度上端 1~2 cm 处，然后迅速用食指按紧吸量管上口，以免液体从吸量管下口流出。

(4) 调准刻度：将吸量管提出液面，吸黏性较大的液体时，先用滤纸擦干管尖外壁；然后用食指控制液体使之缓慢下降，当至所需刻度时，立即按紧吸

量管上口（此时液体凹面、视线和刻度应在同一水平面上）。

（5）放液：放松食指，让液体自然流入容器内，放液时，管尖最好接触容器内壁，但不要插入容器内原有的液体中，以免污染吸量管和试剂。

（6）洗涤：吸取血液、血清等黏稠液体及尿液标本的吸量管，使用后要及时用自来水冲洗干净；吸取一般试剂的吸量管可不必马上冲洗，待实验完毕后再冲洗。冲洗干净后晾干，再浸泡于重铬酸洗液中，数小时后取出，再用自来水冲净，最后用蒸馏水冲洗，晾干备用。

4. 注意事项

（1）对于刻度由上至下的吸量管应尽量使用上端刻度。

（2）管尖残液是否需吹，视具体情况而定。一般来说，1 ml及1 ml以下的均需吹出；>1 ml的视标记而定，如吸量管上方标有“吹”或“◇”形符号，则残液需吹出；标有“快”字，应使残液自然流下。奥氏吸量管均为吹出式。

（六）溶液的混匀

样品与试剂的混匀是保证化学反应充分进行的一种有效措施。为使反应体系内各物质迅速地互相接触，必须借助于外加的机械作用，混匀时须防止容器内液体溅出或被污染，严禁用手指直接堵塞试管口或锥形瓶口震荡。混匀的方式大致有下面几种，可随使用的器皿和液体容量而选用。

1. 旋转法 手持容器，使溶液做离心旋转。适用于未盛满液体的试管或小口器皿，如锥形瓶。

2. 指弹法 一手执试管上端，另一只手轻弹试管下部，使管内溶液做漩涡运动。

3. 搅动法 使用干玻璃棒搅匀，如固体试剂的溶解和混匀。

4. 混匀器法 将容器置于混匀器的振动盘上，逐渐用力下压，使内容物旋转。

5. 振荡法 右手持试管上部。将试管于左手掌中振荡，以达到混匀的目的。

6. 吸管法 适用于样品不同浓度等级稀释的混匀，即用吸管将溶液反复吸吹数次，以达到混匀的目的。

7. 倒转法 适用于有塞的容器，如容量瓶，有塞的量筒及离心管等。操作时，将容器反复倒转，即可充分混匀。

（七）加热与保温

生物化学实验中加热分为直接加热与间接加热。试管、烧杯直接加热注意事项见化学实验，间接加热需事先将水浴调至所需温度。在沸腾水浴中或在一定温度下加热应严格控制温度及保温时间，生物化学实验中为保证许多酶反应或显色反应的保温时间，常使用恒温水浴箱，调节温度设定至需要的温度，水浴箱中水要足量，应在最后加入酶液或显色剂，加入后立即保温、计时，实验

过程中应随时监测温度，并及时调节。否则，会影响结果的可靠性。

(八) 过滤

过滤是分离沉淀和滤液的一种方法，可用于收集滤液，收集或洗涤沉淀。生化实验的过滤操作与化学实验中的操作相同，应注意以下几点：

1. 制备血滤液等实验过滤时，要用干滤纸，因为湿滤纸会影响血液稀释的体积。
2. 折叠滤纸与漏斗壁完全吻合，不留缝隙。一般采用平折法（即对折后再对折）。
3. 向漏斗中加入溶液时最好使用玻棒引流，倒入速度不宜太快，液面切勿超过滤纸上缘。
4. 组织匀浆等较粗样品的过滤可用脱脂棉或纱布代替滤纸，有时可用离心沉淀法代替过滤法。

四、实验样品的制备

在生物化学与分子生物学实验中，无论是分析组织中各种物质（如蛋白质、DNA、RNA）的含量，还是分析组织中的物质代谢过程，都需要利用预先处理过的特定生物样品。掌握实验样品的正确处理与制备方法是做好生物化学与分子生物学实验的先决条件。在基础生物化学与分子生物学实验中，最常用的实验样品是人或动物的血液和组织等。血液样品常采用全血、血浆、血清或无蛋白血滤液；组织样品则常用动物的肝、肾、胰、胃黏膜或肌肉等组织。现将这些样品的制备方法简要介绍如下。

(一) 血液样品

收集动物或人的血液时应使用清洁干燥的试管或器皿，以防止溶血。

1. 血液样品的种类

(1) 全血：取出血液后，迅速置于含有抗凝剂的试管内，同时轻轻混匀，使血液和抗凝剂充分混合，以免血液凝固。取得的全血如不能立即进行实验，应储存于冰箱中。

常用的抗凝剂有草酸盐、柠檬酸盐等，根据实验的要求选取适当的抗凝剂，一般情况下使用肝素钠或肝素。抗凝剂的用量不宜过多，以免影响实验结果。现在已经有制备好的无菌抗凝管供实验和临床检验用。

(2) 血浆：将上述抗凝全血在离心机中离心，血细胞下沉，上清液即为血浆。分离血浆时，必须严格防止溶血，除采血时一切用具（注射器、针头、试管等）都需要清洁干燥外，取出后的血液也不能剧烈振摇。

(3) 血清：收集的血液若不加抗凝剂，在室温下约 5~10 min 即自行凝固。血液凝固 30~60 min 后，即可采用离心方式分离出血清。若血块黏附于容器壁

过于牢固、血清不易分离出来时，可用细玻璃棒轻轻剥离血块。

(4) 无蛋白血滤液：分析血液中某些成分时（如血液中的非蛋白氮、葡萄糖、肌酸等），为了避免蛋白质的干扰，须预先除去血中的蛋白质成分。常用三氯醋酸、钨酸等沉淀剂与蛋白质作用，然后用过滤或离心方法制备无蛋白血滤液。

2. 采取血液样品的注意事项

(1) 空腹采血：血液中不少化学成分可受饮食影响，一般须在早晨空腹或禁食 6 h 以上采取血液。

(2) 防止酶的分解作用：血液内若干化学成分在离体后继续分解。如血糖被红细胞糖酵解酶系统分解而降低；为防止酶分解作用可用氟化钠、碘乙酸等保存剂，或将血液立即制成无蛋白血滤液。

(3) 防止溶血：红细胞与血浆中的成分与含量皆有显著的差别，因此，溶血可影响一些血清或血浆生化检验的结果。为防止溶血，抽血用具必须干燥清洁，避免剧烈振摇，防止污染。

(二) 组织样品的制备

在生物化学与分子生物学实验中，常常利用离体组织研究各种生物大分子的含量变化以及代谢的途径与酶系的作用。生物大分子主要是指蛋白质、酶和核酸，这三类物质是生命活动的物质基础。在自然科学，尤其是生命科学高度发展的今天，蛋白质、酶和核酸等生物大分子的结构与功能的研究是探求生命奥秘的中心课题，而生物大分子结构与功能的研究，必须首先解决生物大分子的制备问题，如果没有达到足够纯度的生物大分子的制备工作，结构与功能的研究就无从谈起。可以从组织中提取各种代谢物质或酶进行研究。由于生物组织离体过久，其所含物质的含量和生物活性都将发生变化，因此，利用离体组织作为提取材料或代谢研究材料时，应在冰冷条件下迅速取出所需组织，并尽快进行提取或测定。

选择动物材料时要注意其年龄、性别、营养状况、遗传素质和生理状态等。动物在饥饿时，脂类和糖类含量相对减少，有利于生物大分子的提取分离。一般采用断头法（或注射空气于动物心脏）处死动物，放出血液，立即取出实验所需的脏器或组织，去除外层的脂肪及结缔组织后，用冰冷的生理盐水洗去血液，必要时也可用冰冷的生理盐水灌注脏器以洗去血液，再用滤纸吸干。迅速称重后，根据实验的不同要求，用以下不同的方法制成不同的组织样品。

1. 组织糜 将组织用剪刀迅速剪碎，置于研钵或匀浆器中，加入少量石英砂研磨成匀浆，即可将动物细胞破碎，这种方法比较温和。

2. 组织匀浆 向剪碎的新鲜组织中加入适量冰冷的匀浆制备液，用高速电动匀浆器或玻璃匀浆器制成匀浆。常用的玻璃匀浆器有 5 ml 和 10 ml 两种，

由一个磨砂玻璃套管和一个带有磨砂玻璃杵头的杵组成。玻璃杵的外壁必须紧靠玻璃套管的内壁。用时将套管放入冰浴中，玻璃杵与调速马达连接，将剪碎的组织悬浮于匀浆制备液中并倾入套管中，然后再把玻璃杵插入套管中。开动马达并调节杵的转速，小心地用手扶住套管口部，不断上下移动，直至组织碎块磨成匀浆为止。常用的匀浆制备液有生理盐水、缓冲液和 0.25 mol/L 蔗糖溶液等，可根据实验的不同要求，加以选择。

3. 组织浸出液 将上法制成的组织匀浆进行离心，其上清液即为组织浸出液。

(三) 组织样品的保存

生物大分子制成品的正确保存极为重要，一旦保存不当，制成的样品就会失活、变性、变质，使前面的全部制备工作化为乌有，前功尽弃。

1. 影响生物大分子样品保存的主要因素

(1) 空气：空气的影响主要是潮解、微生物污染和自动氧化。空气中微生物的污染可使样品腐败变质，样品吸湿后会起潮解变性，同时也为微生物污染提供了有利的条件。还原性强的样品易氧化变质和失活，如维生素 C、巯基酶等。

(2) 温度：每种生物大分子都有其稳定的温度范围，温度升高 10℃，氧化反应加快数倍，酶促反应增加 1~3 倍。因此，通常绝大多数样品都是低温保存，以抑制氧化、水解等化学反应和微生物的生成。

(3) 水份：包括样品本身所带的水份和由空气中吸收的水份。水可以参加水解、酶解、水合和加合，加速氧化、聚合、离解和霉变。

(4) 光线：某些生物大分子可以吸收一定波长的光，使分子活化不利于样品保存，尤其日光中的紫外线能量大，对生物大分子制品影响最大，样品受光催化的反应有变色、氧化和分解，通称光化作用。因此，样品通常都要避光保存。

(5) 样品的 pH 值：保存液态样品时注意其稳定的 pH 值范围，通常可从文献资料和手册中查到或做实验求得，因此，正确选择保存液态样品的缓冲剂的种类和浓度十分重要。

(6) 时间：生物化学和分子生物学样品不可能永久存活，不同的样品有不同的有效期，因此，保存的样品必须写明日期，定期检查和处理。

2. 蛋白质和酶的保存

(1) 低温下保存：由于多数蛋白质和酶对热敏感，通常 35~40℃ 以上就会失活，冷藏于冰箱一般只能保存一周左右，而且蛋白质和酶越纯越不稳定，溶液状态比固态更不稳定。因此通常要保存于 -20℃，如能在 -70℃ 下保存则最为理想。极少数酶可以耐热：如核糖核酸酶可以短时煮沸；胰蛋白酶在稀 HCl 中