



高等院校生物类专业系列教材



分子生物学

EXPERIMENTS IN MOLECULAR BIOLOGY

实验



主 编 李钧敏

副主编 倪 坚 刘光富 金 波



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS
浙江大学出版社



高等院校生物类专业系列教材

内容简介

本书以分子生物学实验为基础,结合生物化学、细胞生物学、遗传学、发育生物学、植物生理学、动物生理学、微生物学、免疫学、生物信息学等学科,系统介绍分子生物学实验技术,包括DNA重组技术、PCR技术、基因克隆、基因表达、蛋白质纯化、蛋白质组学、生物信息学等。本书可作为高等院校生物类专业及相关专业的教材,也可供从事生物研究的科研人员参考。

分子生物学

EXPERIMENTS IN MOLECULAR BIOLOGY

实验

主 编 李钧敏

副主编 倪 坚 刘光富 金 波

副主编 倪 坚 刘光富 金 波



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS
浙江大学出版社

内 容 简 介

本书主要介绍分子生物学的基本操作技术与实验手段,主要包括植物、动物、微生物基因组 DNA 的提取与鉴定,哺乳动物组织总 RNA 的提取与鉴定,质粒 DNA 的提取与鉴定,PCR 扩增,分子杂交技术,限制性内切酶消化,分子克隆全过程和基因文库的构建等实验项目的原理及步骤。

本书是一本既具有一定的理论体系,又具有通用性和指导性作用的教学用书。本书主要面向高等院校,特别是应用型本科院校生物科学、生物工程等相关专业的学生及分子生物学初级研究者。

图书在版编目 (CIP) 数据

分子生物学实验 / 李钧敏主编. —杭州:浙江大学出版社, 2010.6
ISBN 978-7-308-07593-0

I. ①分… II. ①李… III. ①分子生物学—实验—高等学校—教材 IV. ①Q7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 087759 号

分子生物学实验

李钧敏 主编

丛书策划 樊晓燕 季 峥
责任编辑 季 峥 (really@zju.edu.cn)
封面设计 林智广告
出版发行 浙江大学出版社
(杭州市天目山路 148 号 邮政编码 310007)
(网址: <http://www.zjupress.com>)
排 版 杭州中大图文设计有限公司
印 刷 富阳市育才印刷有限公司
开 本 787mm×1092mm 1/16
印 张 9.25
字 数 243 千
版 次 2010 年 6 月第 1 版 2010 年 6 月第 1 次印刷
书 号 ISBN 978-7-308-07593-0
定 价 18.00 元

版权所有 翻印必究 印装差错 负责调换

浙江大学出版社发行部邮购电话 (0571)88925591

前 言

分子生物学为新兴学科。近年来,随着分子生物学学科的建立及其对生物学其他学科的渗透,分子生物学实验技能与方法越来越重要。高等学校生命科学各专业的学生要适应时代的发展,除了需要学习分子生物学理论和分子生物学技术的基本知识以外,还必须系统地掌握分子生物学实验的技能及操作方法。分子生物学实验课程除可作为生物科学及生物工程类各专业学生的实验必修课开设外,还可作为大实验开设,以达到增强学生综合素质和创新思维的目的。本书由台州学院、绍兴文理学院、中国计量学院、浙江中医药大学等多所高校老师联合编写,将各高校的分子生物学实验的教学内容进行有机整合。本书是一本既具有一定的理论体系,又具有通用性和指导性作用的教学用书。本书主要面向高等院校,特别是应用型本科院校生物科学、生物工程等相关专业的学生及分子生物学初级研究者。

本书内容涉及植物、动物、微生物基因组 DNA 的提取与鉴定,哺乳动物组织总 RNA 的提取,质粒 DNA 的提取与鉴定,PCR 扩增,分子杂交技术,限制性内切酶消化,分子克隆全过程和基因文库的构建等实验技术与手段。本书各章节所采用的实验内容均为各校经常开设的实验项目,课程内容具有普及性,并适于推广。

本书各章节既包括相关背景的介绍,又包括“实验目的”、“实验原理”、“实验材料、试剂与仪器”以及“实验步骤”。各章节内容具有综合性、连贯性,每一章节均可作为学生的一个独立实验开设。在编写过程中,我们将多年积累并改进的实验方法及科研成果融入实验教学,如第 3 章的实验 4,第 5 章的实验 8、实验 10,第 6 章的实验 11,第 8 章的实验 17、实验 18 等相关方法均发表在国内外核心期刊上,使整套实验方案可行性高,可操作性强,实验成功率高,实验效果明显。这不仅有助于提高教学质量,达到培养学生动手能力与创新思维的目的,同时又可供分子生物学的初级研究者使用。此外,本书各章节中均包含“实验注意事项”及“典型实验结果分析”,使学生了解实验的关键点与注意点,同时可通过图片直观地了解可能出现的实验结果、存在问题及解决办法,有助于达到综合训练的目的。各章节还以“实验讨论”的形式让学生对实验原理或实验操作中的关键点再做深一层的了解,以加深理解与学习的深度。

本书共分为 15 章,其中第 1 章由李钧敏(台州学院生命科学学院)和杜照奎(台州学院生命科学学院)编写;第 2 章由杜照奎编写;第 3 章李钧敏和金波(浙江中医药大学生命科学学院)编写;第 4 章由金波和丁志山(浙江中医药大学生命科学学院)编写;第 5 章由李钧敏

和倪坚(绍兴文理学院生命科学学院)编写;第6章由倪坚编写;第7章由金波编写;第8章由刘光富(中国计量学院生命科学学院)、蒋明(台州学院生命科学学院)和金波编写;第9章由陈锐铍(浙江中医药大学生命科学学院)编写;第10章由杨受保(绍兴文理学院生命科学学院)编写;第11章由倪坚编写;第12章由杨受保编写;第13章由刘光富和林婉冰(浙江省中医院)编写;第14章由刘光富和林婉冰编写;第15章由蒋明编写;全书最后由李钧敏统稿。

在编写过程中,我们力求将理论与实践结合,重点突出实验的指导性,希望能为使用者提供一本实用性较强的分子生物学实验教材。但由于编者水平有限,本书涉及内容广泛,书中难免还有遗漏与不妥之处,欢迎读者提出宝贵意见。

李钧敏

2010年5月

目 录

第 1 章 分子生物学实验室规范及注意事项	1
1.1 分子生物学实验室常用仪器设备	1
1.2 分子生物学实验室操作规范	3
1.3 分子生物学实验注意事项	6
第 2 章 常用的检测分析方法	10
2.1 分光光度法	10
2.2 电泳	11
实验 1 DNA 浓度与纯度的紫外分光光度法分析	13
实验 2 DNA 的琼脂糖凝胶电泳	15
实验 3 DNA 的聚丙烯酰胺凝胶电泳	19
第 3 章 植物基因组 DNA 的提取及鉴定	22
3.1 植物基因组 DNA	22
3.2 植物基因组 DNA 的提取技术	22
实验 4 改进 SDS 法提取植物基因组 DNA	23
实验 5 CTAB 法提取植物基因组 DNA	28
第 4 章 动物基因组 DNA 的提取及鉴定	31
4.1 动物基因组 DNA	31
4.2 动物基因组 DNA 的提取技术	31
实验 6 动物组织基因组 DNA 的提取	32
实验 7 血液基因组 DNA 的提取	35
第 5 章 微生物基因组 DNA 的提取及鉴定	38
5.1 微生物基因组 DNA	38
5.2 微生物基因组 DNA 的提取技术	38
实验 8 大肠杆菌基因组 DNA 的提取	40
实验 9 酵母基因组 DNA 的提取	42
实验 10 环境微生物基因组 DNA 的提取	44
第 6 章 质粒 DNA 的提取及鉴定	49
6.1 质粒	49
6.2 大肠杆菌质粒 DNA 的提取技术	50

实验 11 碱裂解法小量制备质粒 DNA	51
实验 12 试剂盒抽提大肠杆菌质粒	55
实验 13 质粒 DNA 的大量制备	57
第 7 章 哺乳动物组织总 RNA 的提取及鉴定	59
7.1 哺乳动物组织总 RNA	59
7.2 哺乳动物组织总 RNA 的提取技术	59
7.3 总 RNA 提取中的关键问题	60
实验 14 哺乳动物组织总 RNA 的提取	60
第 8 章 PCR 基因扩增及检测	65
8.1 PCR 技术的原理	65
8.2 PCR 技术的发展历程	65
8.3 PCR 技术的种类	67
实验 15 绿色荧光蛋白基因的 PCR 扩增	67
实验 16 乳铁蛋白基因的 PCR 扩增	69
实验 17 查尔酮合成酶基因的 PCR 扩增	72
实验 18 逆转录 PCR 扩增	74
第 9 章 分子杂交	79
9.1 分子杂交的原理	79
9.2 分子杂交的发展历程	79
9.3 分子杂交的种类	80
实验 19 Southern 杂交	80
实验 20 Northern 杂交	84
实验 21 Western 杂交	87
第 10 章 限制性内切酶消化	91
10.1 限制性内切酶的发现	91
10.2 限制性内切酶的命名及种类	91
10.3 限制性内切酶的反应体系	92
10.4 限制性内切酶酶切图谱	92
实验 22 质粒的限制性内切酶消化	93
实验 23 λ DNA 的限制性内切酶消化	95
第 11 章 目的基因的分离纯化	98
实验 24 乙醇沉淀法纯化 PCR 扩增产物	99
实验 25 硅胶膜吸附法纯化 PCR 扩增产物	101
实验 26 外源 DNA 的琼脂糖凝胶电泳回收	103

第 12 章 DNA 的体外重组	105
12.1 常用的载体	105
12.2 外源 DNA 与载体的连接方法	105
实验 27 PCR 产物直接克隆	107
实验 28 黏性末端的连接	110
第 13 章 感受态细胞的制备及转化	112
13.1 转化	112
13.2 感受态细胞的制备方法	112
实验 29 大肠杆菌感受态细胞的制备及转化	113
实验 30 重组 DNA 的蓝白斑筛选	116
第 14 章 外源基因的诱导表达	119
14.1 表达系统	119
14.2 表达载体	120
14.3 外源基因诱导表达的优化	121
实验 31 外源基因在大肠杆菌中的诱导表达	122
实验 32 蛋白质的 SDS—聚丙烯酰胺凝胶电泳	124
第 15 章 基因文库的构建	128
15.1 基因文库的构建方法	128
15.2 基因文库的应用	129
实验 33 植物 cDNA 文库的构建	130
附录 常用试剂母液配制表	I

第 1 章

分子生物学实验室规范 及注意事项

1.1 分子生物学实验室常用仪器设备

1.1.1 测量设备

固体的测量设备 各种量程、精度的电子天平等,用于称取一定质量的固体药品。实验室常用的电子天平是由德国的赛多利斯(Sartorius)、瑞士的梅特勒—托利多(Mettler-Toledo)等公司生产的。

液体的测量设备 量筒、移液管、微量移液器等,用于量取一定体积的液体试剂。实验室常用的微量移液器是由德国的艾本德(Eppendorf)、美国的热电(Thermo)、法国的吉尔森(Gilson)等公司生产的。

pH 值的测量设备 pH 计,直接测量溶液的 pH 值。实验室常用的 pH 计有梅特勒—托利多 Delta320 等。

光密度值的测量设备 分光光度计,通过 OD 值反映核酸、菌液等的浓度。实验室常用的分光光度计有美国安玛西亚(Amersham)的 Ultraspec 3300pro、日本岛津(Shimadzu)的 UV-1800 和国产的普析通用 T6 新世纪等。

1.1.2 灭菌消毒及净化设备

高压蒸汽灭菌器 常用于对玻璃器皿、培养基、试剂等在使用前的灭菌和一些有潜在危险的细菌、病毒等在丢弃前的灭菌。实验室常用的高压蒸汽灭菌器有日本的 TOMY S325、Hirayama HV-25 等。

干热灭菌烘箱 用于金属器械、瓷器和玻璃器皿(如剪刀、镊子、研钵、试管、三角瓶和培养皿等)的干热灭菌,温度可达 160℃,不适合橡胶、塑料及大部分药品的灭菌。

除菌过滤器 用于不耐高温、高压的试剂灭菌(如抗生素、维生素或血清等)。常用

滤膜孔径为 $0.22\ \mu\text{m}$ 或 $0.45\ \mu\text{m}$ 。

紫外灯 用于无菌室和超净台等空气灭菌。

超净工作台 其原理是由鼓风机驱动空气,经过低、中效的过滤器后,通过工作台面,使实验操作区域成为无菌的环境。实验室常用的超净工作台有苏州净化工作台 SW-CJ-2F 等。

1.1.3 温控及干燥设备

冰箱 用于试剂、酶、抗生素和菌种等的保藏。最常使用的有 4°C 、 -20°C 、 -80°C 冰箱。德国的西门子,日本的松下,我国的海尔、美的等厂家生产的冰箱均可满足实验室的需要。 -80°C 冰箱以日本三洋生产的最为常用。

冷柜 $0\sim 10^{\circ}\text{C}$ 的冷柜适合用于低温条件下的电泳、层析、透析等实验。常用的有星星、白雪等品牌的产品。

液氮罐 用于长期储存细胞、病毒或某些微生物,或为实验提供液氮。

生化培养箱 37°C 恒温培养箱用于细菌的平板培养和细胞培养等。实验室常用的培养箱有三洋 MIR-262 等,国产的以江苏、上海厂家生产的居多。

恒温摇床 37°C 恒温摇床可进行液体细菌的培养等。

水浴锅 用于分子杂交和各种生物化学酶反应等实验的保温,质粒与基因片段的连接等实验和 42°C 的大肠杆菌感受态的热激等。

烘箱 用于烘干玻璃器皿、塑料制品等。常用的温度为 $60\sim 80^{\circ}\text{C}$ 。

1.1.4 电泳及检测设备

电泳设备 由电泳仪和电泳槽 2 部分组成。电泳仪通过稳压器将交流电转换成直流电,输出稳定的电压。电泳槽装置可分为水平电泳槽和垂直电泳槽。水平电泳槽通常用于核酸的电泳;垂直电泳槽通常用于蛋白质的电泳。实验室常用的水平电泳槽有北京六一的 DYCP-31DN 等;常用的垂直电泳槽有美国伯乐(BIO-RAD)的 Mini-Protean 3 等。

凝胶成像分析系统 用于电泳后含溴化乙锭的核酸样品的观察分析。常用的凝胶成像分析系统有美国伯乐的 Gel-Doc 2000 等。

1.1.5 其他设备

超纯水仪 利用反渗透技术和离子交换技术等,除去自来水中的颗粒和其他杂质,生产超纯水,用于 PCR、DNA 测序、酶反应、组织和细胞培养等。实验室常用的超纯水设备主要有美国密理博(Millipore)的 Milli-Q 系列产品和美国颇尔(Pall)的 Cascada 等。

离心机 根据各种物质在质量、沉降系数等方面的差异,利用强大的离心力场,用于细胞和生物大分子等的分离、纯化和浓缩。按转速的不同,其可分为普通离心机、高速离心机和超速离心机等几种类型。实验室常用的离心机有德国艾本德、美国贝克曼(Beckman)

和日本久保田(Kubota)等公司的系列产品。

PCR 仪 也称热循环仪,使 1 对寡核苷酸引物结合到正负 DNA 链上的靶序列两侧,从而酶促合成数百万倍的 DNA 片段。实验室常用的 PCR 仪有美国伯乐公司的 PTC 100, ABI 公司的 9700 型等产品。

分子杂交炉 也叫分子杂交仪或分子杂交箱,主要用于 Southern、Northern 以及 Western 杂交反应。实验室常用美国 Shellab、Boekel 等公司的产品。

超声波破碎仪 用于破碎动植物组织和细胞、细菌及孢子等结构。实验室常用的有美国 Sonics 公司的产品。

微波炉 便于一些溶液的快速加热和定温加热,以及电泳琼脂糖凝胶配制、熔化等。国产的格兰仕、美的等品牌的微波炉即可满足实验室需要。

制冰机 用于制造碎冰,为大多数核酸、蛋白质的实验操作提供低温环境,以减少核酸酶或蛋白质酶的水解。常用的有日本三洋的 SIM-F140 等。

磁力搅拌器 加速难溶试剂(如过硫酸铵、SDS 等)的溶解。

生物安全柜 又称通风柜,用于易挥发或有毒的物质(如甲苯、二甲苯、氯仿、酚等)的操作。

1.2 分子生物学实验室操作规范

1.2.1 橡胶和塑料制品的清洗

新购的橡胶或塑料制品用自来水冲洗干净后晾干,放入 2% 氢氧化钠溶液中浸泡过夜(或煮沸 30 min),再用自来水冲洗干净,晾干,放入 4% 盐酸中浸泡 30 min,用双蒸水冲洗 3 次,晾干,放入铝盒中高压、121℃ 灭菌 30 min,烘干备用。

1.2.2 玻璃仪器的清洗

新购玻璃仪器的表面附有碱性物质,先用洗洁精刷洗,再用自来水冲净,浸泡于 1%~2% 盐酸中过夜,接着用自来水冲洗,最后用蒸馏水冲洗 3 次,干燥或灭菌后备用。

对于不同类型的使用过的玻璃仪器,有不同的清洗方法:

(1)普通玻璃仪器(如试管、烧杯、锥形瓶等),用自来水冲洗后,用洗洁精刷洗,再用自来水反复冲洗,最后用双蒸水洗涤 3 次,经高压蒸汽灭菌、干燥后备用。

(2)容量分析仪器(如移液管和容量瓶等),先用自来水冲洗,晾干,再用铬酸洗液浸泡过夜,用自来水冲洗,最后用双蒸水洗涤 3 次,干燥备用。

(3)比色杯(皿),绝不可用强碱清洗,因为强碱会侵蚀抛光的表面。应用 2% 的去污剂浸泡,然后用自来水、蒸馏水冲洗,如效果不佳,可用棉花棒轻轻刷洗,切忌用试管刷或粗糙布(纸)擦拭,最后干燥备用。

1.2.3 溶液的混匀

混匀是保证物质间生物化学反应的必要条件,外力的机械作用可使物质达到混匀的目的。根据使用的器皿和液体的体积的不同,大致有下面几种混匀方法:

(1)搅拌混匀,即手持玻棒或利用电磁搅拌器对溶液进行搅拌。本方法适用于烧杯、烧瓶等内容物的混匀,如固体试剂 SDS 的溶解和混匀。

(2)颠倒混匀,即手持容器,来回颠倒数次。本法适用于有塞的容量瓶及有塞试管内容物的混匀。

(3)旋转混匀,即手持容器,使溶液离心旋转。本法适用于未盛满液体的小口器皿,如锥形瓶、试管等。

(4)吹吸混匀,即用移液器将溶液反复吹吸数次,使溶液混匀。本法适用于微量液体的混匀,比如 DNA 电泳样品与上样缓冲液的混匀等。

(5)指弹混匀,即左手持试管上部,用右手指轻轻弹动试管下部,使管内溶液做漩涡运动;或用右手持试管上端,在左手掌上击打,以混匀内容物。不管是哪种方式,混匀时需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。本法适用于试管内容物的混匀。

1.2.4 可调式移液器

1. 可调式移液器的结构

可调式移液器的结构如图 1.1 所示。



图 1.1 可调移液器的结构

A:按钮(拇指钮);B:把手;C:手柄;D:按钮杆;E:卸尖器;F:显示窗;G:卸尖器环;H:吸头

2. 可调式移液器的操作规范

(1)正确拿法。将移液器的把手朝外,四指并列放于把手下方,用拇指按住移液器按钮。

(2)量程调节。将旋钮调到所需刻度处,量程统一为三位数。例如,1 mL 的移液器显示窗显示 100 即为最大量程;100 μ L 的移液器显示 100 即为最大量程;20 μ L 的移液器显示 200 即为最大量程(最后 1 位为小数点后的数值);2 μ L 的移液器显示 200 即为最大量程(最后 2 位为小数点后的数值)。千万不可超出最大量程。不同规格的移液器有不同的量程和误差,如表 1.1 所示。

表 1.1 可调移液器的量程及误差

体积范围	增量	达到最大体积时的误差
0.1~2 μL	0.01 μL	$\pm 0.03 \mu\text{L}$
0.5 ~ 10 μL	0.1 μL	$\pm 0.3 \mu\text{L}$
20 ~ 200 μL	1 μL	$\pm 2 \mu\text{L}$
100 ~ 1000 μL	5 μL	$\pm 10 \mu\text{L}$

正确的容量设定分为 2 个步骤：一是粗调，即通过按钮将容量值迅速调整至接近自己的预想值；二是细调，当容量值接近自己的预想值以后，应将移液器横置，水平放在自己的眼前，通过按钮上的调节轮慢慢地将容量值调至预想值，从而避免视觉误差所造成的影响。

(3) 安装吸头。将吸头放在吸头盒中，将移液器的前部插入吸头中，用力插两下，拿出即可使用。或是采用旋转安装法，具体的做法是，把白套筒顶端插入吸头（无论是散装吸头还是盒装吸头都一样），在轻轻用力下压的同时，把手中的移液器按逆时针方向旋转 180° 。安装吸头时切记用力不能过猛，更不能采取剥吸头的方法来进行安装，因为那样做会对您手中的移液器造成不必要的损伤。

(4) 预洗吸头。我们在安装了新的吸头或增大了容量值以后，首先应该把需要转移的液体吸取、排放两三次，这样做是为了让吸头内壁形成一道同质液膜，确保移液工作的精准度，使整个移液过程具有极高的重现性。其次，在吸取有机溶剂或高挥发液体时，挥发性气体会在白套筒室内形成负压，从而产生漏液，这时就需要我们预洗 4~6 次，让白套筒室内的气体达到饱和，负压就会自动消失。

(5) 取液。用拇指将按钮往下按，至卡处部位停止下按（推动按钮内部的活塞分 2 段行程，第一档为吸液，第二档为放液，手感十分清楚），将吸头插入液面下。浸入的深度为：2 μL 和 10 μL 移液器小于或等于 1 mm，20 μL 、100 μL 和 200 μL 移液器小于或等于 2 mm，1 mL 移液器小于或等于 3 mm，5 mL 和 10 mL 移液器小于或等于 4 mm。若浸入过深，液压会对吸液的精确度产生一定的影响。当然，具体的浸入深度还应根据盛放液体的容器大小灵活掌握。然后缓慢地放开拇指，平稳松开按钮，切记不能过快，至液体停止上升后，将吸头移离液面。

(6) 放液。放液时，将吸头置于离心管中或上方，或是紧贴容器壁，先将排放按钮按至第一停点，略做停顿以后（若已放完液体，则放液完成），若液体尚未放完，则可按至第二停点，这样做可以确保吸头内无残留液体。如果这样操作还有残留液体存在的话，您就应该考虑更换吸头了。

(7) 卸去吸头。卸掉的吸头一定不能和新吸头混放，以免产生交叉污染。

1.3 分子生物学实验注意事项

1.3.1 设备方面

1. 可调式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,以防溶液因吸入过快而冲入移液器内,腐蚀柱塞,造成漏气。

(2) 为获得较高的精度,吸头需预先吸取1次样品溶液,然后再正式移液,因为如吸取血清蛋白质溶液或有机溶剂时,吸头内壁会残留1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,可由实验确定消除其误差的补偿量,补偿量可用调节按钮改变显示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移液器,1 mL 蒸馏水 20℃时重 0.9982g。

(5) 使用时避免倒转移液器,避免液体进入枪体内。使用完后,及时将吸头移除,将移液器挂在移液器架上,切不可平放。

(6) 不可使用对枪体有腐蚀性的液体(如氯仿、硫酸等)。

2. 电子天平使用注意事项

(1) 天平应放置在牢固平稳的水泥台或木台上,室内要求清洁、干燥及有较恒定的温度,同时应避免光线直接照射到天平上。

(2) 称量时应从侧门取放物质,读数时应关闭箱门,以免空气流动引起天平摆动。前门仅在检修或清除残留物质时使用。

(3) 称量前对天平进行校准,调节水平,并应注意其称量范围,切记不可超出,否则将造成不可修复的损坏。

(4) 天平箱内应放置吸潮剂(如硅胶)。当吸潮剂吸水变色,应立即高温烘烤或更换,以确保吸湿性能。

(5) 挥发性、腐蚀性、强酸强碱类物质应盛于带盖称量瓶内称量,防止腐蚀天平。

3. pH 计使用注意事项

(1) 防止仪器与潮湿气体接触。潮气的侵入会降低仪器的绝缘性,使其灵敏度、精确度、稳定性都降低。玻璃电极不要与强吸水溶剂接触太久,在强碱溶液中使用应尽快,用毕立即用水洗净。

(2) 玻璃电极球泡很薄,容易破损,不能与硬物相碰。当玻璃膜沾上油污时,应先用四氯化碳或乙醚,再用酒精浸泡,最后用蒸馏水洗净。如测定含蛋白质的溶液的 pH 值时,电极表面被蛋白质污染,会导致读数不可靠、不稳定,出现误差,这时可将电极浸泡在 0.1 mol/L 稀盐酸中 4~6 min 来矫正。

(3) 甘汞电极在使用时,注意电极内要充满氯化钾溶液,且无气泡,防止断路。应有少

许氯化钾结晶存在,以使溶液保持饱和状态。如结晶过多,毛细孔堵塞,最好重新灌入新的饱和氯化钾溶液。

(4) 电极清洗后只能用滤纸轻轻吸干,切勿用织物擦抹,这会使电极产生静电荷而导致读数错误。

4. 分光光度计使用注意事项

(1) 由于长途运输或室内搬运可能造成光源位置偏移,导致亮电流漂移增大。此时应对光源位置进行调整,直至达到有关技术指标为止。

(2) 分光光度计的放置应避免阳光直射、强电场、腐蚀性气体等。仪器室应保持洁净干燥。仪器初次使用或使用较长时间(一般为1年)后,需检查波长准确度,以确保检测结果的可靠性。

(3) 比色皿分为玻璃和石英两种,价格比较昂贵,请使用者小心爱护。不要用手触摸比色皿的光学表面。用完后立即用蒸馏水清洗干净,并用干净柔软的纱布将水迹擦去,以防止表面光洁度被破坏而影响比色皿的透光率。完全干燥后,放回盒中,避免因丢失而导致不能配套。

(4) 仪器每次使用完毕,应盖好防尘罩,同时测量室内放置数袋硅胶(或其他干燥剂),以免反射镜受潮霉变,影响仪器使用。

(5) 仪器长时间不用时,应定时通电预热,每周1次,每次30 min,以保证仪器处于良好使用状态。

5. 高压蒸汽灭菌器使用注意事项

(1) 灭菌器内的蒸馏水应到达指定位置,如果水不足应立即补充。

(2) 装培养基的试管或瓶子的棉塞上,应包油纸或牛皮纸,以防冷凝水入内。待灭菌的物品不宜放置过多,关闭盖子时一定要密闭关好。

(3) 灭菌完毕后,不可放气减压,否则瓶内液体会剧烈沸腾,冲掉瓶塞而外溢,甚至导致容器爆裂。须待灭菌器内压力降至与大气压相等后才可开盖。

6. 电泳仪使用注意事项

(1) 仪器必须有良好的接地端,以防漏电。电泳仪通电进入工作状态后,禁止人体接触电极、电泳物及其他可能带电部分,也不能到电泳槽内取放东西,如需要应先断电,以免触电。

(2) 仪器通电后,不要临时插入或拔出输出导线插头,以防发生短路现象。虽然仪器内部附设有保险丝,但短路现象仍有可能导致仪器损坏。

(3) 在总电流不超过仪器额定电流时,可以多槽关联使用,但要注意不能超载,否则容易影响仪器寿命。

(4) 某些特殊情况下需检查仪器电泳输入情况时,允许在稳压状态下空载开机;但在稳流状态下必须先接好负载再开机,否则电压表指针将大幅度跳动,容易造成不必要的人为机器损坏。

(5) 使用过程中发现异常现象(如较大噪音、放电或有异常气味),须立即切断电源,进行检修,以免发生意外事故。

7. 冷冻离心机使用注意事项

- (1) 机体应始终处于水平位置,外接电源系统的电压要匹配,并要有良好的接地线。
- (2) 开机前应检查转头是否安装牢固、机腔内有无异物掉入等。
- (3) 样品应预先平衡,若使用离心筒离心,则离心筒与样品应同时平衡。
- (4) 挥发性或腐蚀性液体离心时,应使用带盖的离心管,并确保液体不外漏,以免腐蚀机腔或造成事故。
- (5) 使用完毕后,用洁净纱布擦干腔内水分,动作要轻,以免损坏机腔内温度感应器。
- (6) 离心过程中若发现异常现象,应立即关闭电源,报请有关技术人员检修。

1.3.2 试剂方面

丙烯酰胺(acrylamide) 可通过皮肤吸收及呼吸道进入人体,具有神经毒性且有累积效应。搬运和使用中必须穿戴好防护用具(如防毒服、防毒口罩及防毒手套等)。

叠氮钠(sodium azide) 毒性非常大,阻断细胞色素电子运送系统,可因吸入、咽下或皮肤吸收而损害健康。含有叠氮钠的溶液要标记清楚。操作时要戴合适的手套和安全护目镜。

二甲基亚砜(DMSO) 对皮肤有极强的渗透性,存在严重的毒性作用,与蛋白质疏水基团发生作用,导致蛋白质变性。操作时戴手套,在通风橱中操作。

二硫苏糖醇(DTT) 很强的还原剂,散发难闻的气味,可因吸入、咽下或皮肤吸收而危害健康。当使用固体或高浓度储存液时,须戴手套和护目镜,在通风橱中操作。

二乙基焦碳酸酯(DEPC) 1种潜在的致癌物质。使用时戴口罩,并避免接触皮肤,尽量在通风的条件下操作。

过硫酸铵(AP) 对黏膜、上呼吸道、眼睛和皮肤具有危害性,吸入可致命。操作时戴手套,在通风橱中进行,操作完后彻底洗手。

吉姆萨(Giemsa) 有毒染料,通过吸入、皮肤吸收、咽下可致命或引起眼睛失明。使用时要戴合适的手套和安全护目镜,在化学通风橱里操作,千万不要吸入其粉末。

甲醛(formaldehyde) 致癌剂,有很大的毒性并易挥发,很容易通过皮肤吸收,对眼睛、黏膜和上呼吸道有刺激和损伤作用。要避免吸入其挥发的气雾。操作时要戴手套和安全眼镜,始终在化学通风橱内进行。远离热、火花及明火保存。

焦碳酸二乙酯(DEPC) 1种潜在的致癌物质。操作时应尽量在通风的条件下进行,并避免接触皮肤,使用时戴口罩。

氯仿(chloroform) 致癌剂,对皮肤、眼睛、黏膜和呼吸道有刺激作用,可损害肝和肾。操作时要戴手套和安全护目镜,并始终在化学通风橱里进行。

β -巯基乙醇(β -mercaptoethanol) 强还原剂,具有难闻的气味,吸入、咽下或皮肤吸收会危害健康。要在通风橱中操作,戴手套。

三氯乙酸(TCA) 有很强的腐蚀性。操作时要戴合适的手套和安全护目镜。

十二烷基硫酸钠(SDS) 可因吸入、咽下或皮肤吸收而损害健康。操作时要戴手

套、口罩和安全护目镜,不要吸入其粉末。

四甲基二乙胺(TEMED) 具有强神经毒性。操作时要快速,防止误吸。应密封存放。

Triton X-100 可因吸入、咽下或皮肤吸收而使人受害,会引起严重的眼睛刺激和灼伤。操作时要戴手套和护目镜。

Trizol 含有毒物质苯酚,对眼睛有刺激性,腐蚀皮肤。使用过程中要戴手套。

溴化乙锭(ethidium bromide,EB) 强烈诱变剂,具有致癌性。使用时要带一次性手套,不要再随便触摸别的物品,注意操作规范。

乙酸(acetic acid) 因吸入或皮肤吸收而使人受到伤害。操作时要戴手套和护目镜,最好在化学通风橱中操作。