生命科学核心课程系列教材

生物工程实验技术

Bioengineering Experiment Techniques

常景玲 主编

科学出版社

生物工程实验技术

生命科学核心课程系列教材

生物工程实验技术

主　编　常景玲
副主编　华承伟　孙　婕　陈建军

科学出版社
北　京

内 容 简 介

本书的编写主要从实验设计出发，以发酵过程控制、产物提取和分离纯化为主线，突出每个实验的基本原理、操作技能及数据处理方法。全书共7章，分别为实验室与实验的一般规则、生物过程参数检测与控制、发酵工程技术、酶工程技术、细胞工程技术、基因工程技术和生物产品分离纯化，每章都有相应的参考文献，书后还摘编了生物工程实验常用的附录。目前，为适应“厚基础、重应用、高工程素质”的人才培育模式，大多高校的生物工程及其相关专业均开设有综合大实验课程，教学一般采取连续课时，本书为此课程提供了具有代表性的、成套的综合大实验内容，便于教学中选用。

本书可作为高等院校生物工程、生物科学、食品科学、微生物等专业教学用书，也可供微生物发酵行业有关研究人员、企业技术人员等参考。

图书在版编目(CIP)数据

生物工程实验技术/常景玲主编. —北京：科学出版社，2012
生命科学核心课程系列教材
ISBN 978-7-03-034489-2

Ⅰ.①生… Ⅱ.①常… Ⅲ.①生物工程-实验-高等学校-教材 Ⅳ.①Q81-33

中国版本图书馆CIP数据核字（2012）第110384号

责任编辑：席 慧 刘 晶/责任校对：刘小梅
责任印制：阎 磊/封面设计：迷底书装

科学出版社 出版
北京东黄城根北街16号
邮政编码：100717
http://www.sciencep.com
铁成印刷厂 印刷
科学出版社发行 各地新华书店经销
*
2012年6月第 一 版 开本：787×1092 1/16
2012年6月第一次印刷 印张：19
字数：492 000

定价：42.00元
（如有印装质量问题，我社负责调换）

《生物工程实验技术》编委会名单

主　　编　常景玲

副 主 编　华承伟　孙　婕　陈建军

编写人员　(按姓氏汉语拼音排序)

常景玲　陈建军　华承伟

李　兰　鲁吉珂　孙　婕

王国霞　张艳芳

此为试读,需要完整PDF请访问: www.ertongbook.com

前　言

生物工程被视为人类21世纪三大前沿学科之一。现代生物工程的应用领域非常广泛，包括农业、工业、医学、药物学、能源、环保、冶金、化工原料等，可概括为五大工程：基因工程、细胞工程、发酵工程、酶工程和生物反应器工程。

近年来，教育改革对高等院校提出了很多新的要求，教育部在教高［2007］1号、2号文件中强调，“高度重视实践环节，提高学生实践能力”。党的十七大报告也明确指出，“提高自主创新能力，建设创新型国家，是国家发展战略的核心，是提高综合国力的关键”。由此可见，党和国家十分关注大学生实践和创新能力的培养。生物工程被视为对未来有较大影响力的朝阳行业，生物工程专业的学生正面临着各种各样的机遇，生物工程专业应该培养“厚基础、重实践、强能力、高素质”的应用型人才。

高校生物工程专业主要是培养掌握现代生物工程及产业化科学原理，具有扎实的专业基础知识与技能，能够进行生物工程产品生产、研制与开发及工艺流程和工程设计等的高级工程技术人才。传统的生物工程专业实验教学一般以课程为单位，采用固定学时、以单元操作为模块、以验证性实验为主体的教学模式，实验内容简单，相互融合较少；验证性实验较多，综合性、设计性、研究性实验较少；传统型、经典型实验较多，实用型、反映学科前沿的实验较少。这种以老师为主、学生为辅的做法，使实验流于形式，教学效果较差，既不能调动学生学习的积极性和主动性，也很难体现生物工程实验的综合性特点，不利于学生综合应用所学理论与技术解决实际问题能力的培养，也不利于学生对于生物工程知识与技术全面的了解和掌握。生物工程专业开设综合大实验正是强化学生实践环节、提高学生动手能力的有效手段之一。通过为期3～4周的综合大实验的训练，学生可在实验设计能力、动手能力、创新能力、团队合作精神等方面有大幅提高，不但为其后续的毕业课题研究打下坚实的基础，还可增强学生再深造和就业的竞争力。

对于生物工程专业实验来说，其作为一门实验性及应用性较强的学科，不仅要求培养的人才具有深厚的理论基础，还应具备较强的独立分析和解决问题的能力，因此，生物工程专业建设过程中，如何规划与开设该专业的实验课程就成为一个非常重要的问题，尤其是如何建设能够体现生物工程专业特点和培养方向的专业综合性实验课程就更为迫切与关键。

本书的编写人员为在高校和企业常年从事生物工程教学、科研与生产的专家及青年学者，他们在参阅了大量相关论著和文献的基础上，将长期以来的研究成果和企业产品生产的先进工艺技术凝练在一起编写成本书，书中既有他人的成熟方法，也有自己积累的经验，具有可靠的重复性。其中，第1章由常景玲、王国霞、鲁吉珂和华承伟编写，第2章由陈建军编写，第3章由李兰编写，第4章由鲁吉珂和华承伟编写，第5章由孙婕编写，第6章由王国霞编写，第7章由张艳芳、孙婕和华承伟编写；常景玲、王国霞负责附录的编写。全书由常景玲教授最后审校和定稿。

建议本课程安排在短学期连续进行，全部实验可在 3～4 周内完成。各高校生物工程专业可根据实际情况选择书中的成套实验。

本书得以完成，全靠所有参编者的共同努力，但由于编者水平有限，书中不足及疏漏之处在所难免，恳请读者批评指正。

常景玲

2012 年 4 月 15 日

目　　录

前言
第 1 章　实验室与实验的一般规则 …… 1
1.1　实验室一般规则 …… 1
1.2　实验方案的确定 …… 11
1.3　实验的实施 …… 25
1.4　数据处理与分析 …… 36
1.5　生物反应过程的优化与放大 …… 43
1.6　实验文献与网络资源 …… 46
参考文献 …… 49
第 2 章　生物过程参数的检测与控制 …… 51
实验 2.1　生物量的测定 …… 52
实验 2.2　微生物菌体密度的测定 …… 58
实验 2.3　亚硫酸盐法测定体积溶氧系数 …… 60
实验 2.4　动态法测定体积溶氧系数 …… 62
实验 2.5　发酵液黏度的测定 …… 66
实验 2.6　酸度和 pH 的测定 …… 68
实验 2.7　总糖、还原糖含量的测定 …… 71
实验 2.8　搅拌功率的测定 …… 75
实验 2.9　氨基氮和铵离子含量的测定 …… 77
实验 2.10　溶磷含量的测定 …… 80
实验 2.11　生物效价的测定 …… 82
实验 2.12　在线溶氧电极测发酵体系临界溶氧浓度 …… 92
实验 2.13　发酵废液 COD 的测定 …… 94
参考文献 …… 96
第 3 章　发酵工程技术 …… 98
3.1　原料制备技术 …… 99
实验 3.1　去离子水的制备 …… 99
实验 3.2　淀粉水解糖的制备 …… 102
实验 3.3　糖蜜原料处理技术 …… 105
3.2　典型产品制备技术 …… 108
实验 3.4　红霉素发酵 …… 109
实验 3.5　谷氨酸发酵 …… 115
实验 3.6　D-核糖发酵 …… 121
实验 3.7　发酵生产 L-乳酸 …… 127

实验 3.8 酒精发酵 …… 132
实验 3.9 啤酒酿造 …… 135
实验 3.10 葡萄酒酿造 …… 140
实验 3.11 红曲霉固态发酵产红曲红色素 …… 147
实验 3.12 酸乳制作 …… 150
实验 3.13 秸秆厌氧发酵制备沼气 …… 153
参考文献 …… 155
第 4 章 酶工程技术 …… 156
实验 4.1 淀粉酶发酵制备 …… 156
实验 4.2 从鸡蛋清中提取溶菌酶 …… 162
实验 4.3 多酚氧化酶提取及固定化 …… 164
实验 4.4 多酚氧化酶催化制备茶黄素 …… 167
参考文献 …… 169
第 5 章 细胞工程技术 …… 171
实验 5.1 西洋参细胞悬浮培养 …… 172
实验 5.2 植物的组织培养 …… 175
实验 5.3 枯草芽孢杆菌原生质体融合 …… 178
实验 5.4 小鼠骨骼肌细胞的培养 …… 183
参考文献 …… 186
第 6 章 基因工程技术 …… 187
实验 6.1 PCR 扩增目的基因 …… 188
实验 6.2 重组载体构建 …… 192
实验 6.3 感受态细胞的制备 …… 196
实验 6.4 细菌转化与筛选 …… 198
实验 6.5 重组子筛选及 PCR 鉴定 …… 201
实验 6.6 重组质粒酶切鉴定 …… 203
参考文献 …… 205
第 7 章 生物产品分离纯化 …… 206
7.1 细胞破碎技术概述 …… 207
实验 7.1 机械法（超声波法）破碎酵母细胞及破碎率的测定 …… 207
实验 7.2 物理法（反复冻融法）破碎酵母细胞 …… 210
实验 7.3 酶溶法破碎大肠杆菌细胞 …… 211
7.2 发酵液的预处理概述 …… 213
实验 7.4 发酵液的絮凝 …… 214
实验 7.5 发酵液中金属离子的去除 …… 217
7.3 固液分离技术概述 …… 219
实验 7.6 离心法分离酵母菌发酵液 …… 219
实验 7.7 板框压滤机分离米曲霉发酵液 …… 222
实验 7.8 超滤膜分离枯草芽孢杆菌发酵液 …… 224
7.4 生物产品提取纯化技术 …… 228

实验 7.9 盐析 …… 228
实验 7.10 透析 …… 234
实验 7.11 离子交换 …… 236
实验 7.12 凝胶层析 …… 238
实验 7.13 淀粉酶的双水相萃取 …… 241
实验 7.14 红霉素的溶媒萃取 …… 243
实验 7.15 单萜类化合物的提取与检测 …… 244
实验 7.16 人参总皂苷的提取与检测 …… 252
实验 7.17 β-胡萝卜素的提取与检测 …… 254
7.5 结晶与重结晶技术 …… 257
实验 7.18 谷氨酸的结晶与重结晶 …… 258
7.6 生物产品浓缩与干燥技术 …… 260
实验 7.19 多糖的真空浓缩 …… 261
实验 7.20 多糖的冷冻干燥 …… 264
实验 7.21 生物产品的喷雾干燥 …… 269
参考文献 …… 271
附录 …… 274
一、常用培养基 …… 274
二、常用试剂的配制方法 …… 280
三、常用缓冲液的配制 …… 283
四、硫酸铵饱和度计算及加入方式 …… 286
五、生物工程单元操作实验中常用数据表 …… 288
六、高压蒸汽灭菌常用压力、温度与时间 …… 290
七、实验室常用化学杀菌剂和消毒剂 …… 290
八、发酵中常用有机氮源的成分 …… 291
参考文献 …… 291

第1章 实验室与实验的一般规则

1.1 实验室一般规则

1.1.1 实验室规则要点

(1) 每个同学都应遵守学习纪律，维护实验室秩序，保持室内安静，不大声说笑或喧哗。

(2) 实验前认真做好预习，明确目的和要求，了解本次实验内容的基本原理和操作步骤。

(3) 在实验过程中听从教师的指导，严肃认真地按操作规程进行实验，并简要、准确地将实验结果及原始数据记录在专用的实验记录本上，养成良好的、实事求是的科学作风。课后及时总结复习，根据原始记录进行整理，并写出实验报告，按时送交任课教师评阅。

(4) 保持实验室环境和仪器的整洁是做好实验的关键。必须维持实验桌面及试剂药品架上的清洁整齐，不要乱放和乱扔，仪器和试剂药品放置要井然有序。公用试剂药品用毕后立即盖好放回原处，要特别注意保持药品及试剂的纯净，严禁混杂。

(5) 使用仪器、药品、试剂和各种器材都必须注意爱护及节约，不得浪费。洗涤和使用玻璃仪器时，应谨慎仔细，防止损坏；在使用贵重精密仪器时，应严格遵守操作规程，发现故障立即报告教师，不要擅自动手拆散和检修。

(6) 废弃溶液可倒入水槽内，但强酸、强碱溶液必须先用水稀释后，再放水冲走。强腐蚀性废弃试剂药品、废纸及其他固体废物或带有渣滓沉淀的废液均应倒入废品缸内，不能倒入水槽内。

(7) 实验室内一切物品，未经本室教师许可，严禁携出室外，借物时必须办理登记手续。仪器损坏时，应随即向教师报告，如实说明情况并认真登记后方可补领。

(8) 必须遵守和熟悉实验室安全规章及防护知识，不得违反和破坏。禁止在实验室内吸烟。使用电炉时应有人在旁，不可擅自离开不管，用毕后切记断电。

(9) 每次实验结束后，应各自将仪器清理放置（部分玻璃器皿需倒置安放），并整理好实验桌面上的物品。值日生要负责当日实验室的卫生和安全检查，做好全部清理工作，离开实验室前应关上水、电、燃气、门窗等，严防安全隐患事故的发生。

(10) 对实验内容和安排不合理之处可提出改进意见，做到教学相长。对实验中出现的一切反常现象可开展分析和讨论。

(11) 洗净的仪器要放在架上或干净的纱布上晾干，不能用抹布擦拭，更不能用抹布擦拭仪器内壁。

(12) 挪动干净玻璃仪器时，勿使手指接触仪器内部。

(13) 取出的试剂和标准溶液，如未用尽，切勿倒回原试剂瓶内，以免掺混。

(14) 凡是发生烟雾、有毒气体及有臭味气体的实验，必须在通风橱内进行。

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

(15) 用实验动物进行实验时，不许戏弄动物。进行杀死或解剖等操作，应按规定方法进行，绝对不能用动物、手术器械或药物开玩笑。

(16) 一般容量仪器的容积都是在20℃下校准的。使用时如温差在5℃以内，容积改变不大，可以忽略不计。

1.1.2 实验室基本设施的使用

1.1.2.1 生物工程实验室的常规仪器、设备

1. 温度控制系统

(1) 冰箱：根据药品、试剂及多种生物制剂保存的需要，必须具备不同控温级别的冰箱，最常使用的有4℃、−20℃、−80℃冰箱。

4℃适合储存某些溶液、试剂、药品等。

−20℃适合某些试剂、药品、酶、血清、配好的抗生素、DNA和蛋白质样品等的保存。

−80℃适合某些长期低温保存的样品、纯化的样品、特殊的低温处理消化液等的保存。

0～10℃的冷柜适合低温条件下的电泳、层析、透析等实验。

(2) 液氮罐：有些实验材料、某些器官组织、细胞株、菌株及纯化的样品等，要求速冻和长期保存在超低温环境下，就需要一个液氮罐（−196℃），其具有经济、省力和较好地保持细胞生物学特性的优点。

(3) 培养箱：37℃恒温箱用于细菌的固体培养和细胞培养。

CO_2培养箱适用于培养各种细胞，可恒定地提供一定量的CO_2（通常5%），用来维持培养液的酸度（pH）。

37℃恒温空气摇床可进行液体细菌的培养。

(4) 水浴锅：用于保温。

25～100℃水浴摇床可用于分子杂交实验及各种生物化学酶反应等实验的保温。

25～100℃水浴箱用于常规实验。

(5) 烘箱：主用于烘干实验器皿，有些需要温度高些，有些需要温度低些。用于RNA方面的实验用具，需要在250℃烘箱中烘干，有些塑料用具只能在42～45℃的烘箱中进行烘干。

2. 水的净化装置

随着分子生物学的飞速发展，许多实验对水纯度的要求越来越高。常用的水的净化装置有以下几种。

(1) 蒸馏水器：单蒸水常难以满足实验要求，可用双蒸水、三蒸水配液。多次蒸馏水可除去水中非挥发性杂质，不能完全除去水中溶解的气体杂质。

(2) 离子交换器：用离子交换法制取的水，称为去离子水，其去离子效果好，但不能除去水中的非离子型杂质，其中常含有微量的有机物（树脂等）。

(3) 超纯水：用蒸馏水、离子交换水、反渗透纯水作为供水，用磁铁耦合齿轮泵作用使水循环。超纯水用于PCR、氨基酸分析、DNA测序、酶反应、组织和细胞培养等。

3. 菌消毒设备

(1) 蒸汽消毒锅：用于小批量物品的随时消毒。大批实验物品、试剂、培养基可使用大型消毒器定时进行消毒。

(2) 紫外线、75%乙醇、0.1%SDS（消毒剂）。

一些不耐高压、高温消毒的用具可用紫外线照射，或用乙醇和 SDS 浸泡。

紫外线照射使用方便，但灭菌效果与距离有关，且产生臭氧污染，常用于无菌室、超净台和塑料用具的消毒。

(3) 滤器滤膜：不耐高温、高压的试剂用其除菌。

(4) 煮沸消毒：主要用于金属器械的消毒和急需时采用。

4. 计量系统

(1) 称量系统：(各种天平) 台秤、托盘天平、钮力摆动天平、光电分子天平、精密电子分析天平。

(2) 液体体积的度量。

精量器：移液管、微量取液器。

粗量器：刻度试管、烧杯、锥形瓶、量筒。

(3) pH 测量。

pH 计：测定溶液中 H^+ 的直接电位的仪器，主要通过一对电极，在不同的 pH 溶液中产生不同的电动势，用 pH 表示出来。

pH 试纸：只适用于培养液、酚饱和液、缓冲液或其他试剂溶液 pH 的粗略估计；而大部分试剂配制严格要求 pH，需精确度高 (小数点后两位) 的 pH 计。

(4) OD 值测量：光密度计、分光光度计是利用物质在可见光和紫外线区域中的吸收光谱来鉴定该物质的性质及含量的一种仪器。它由光源、单色器、吸收池、接收器、测量仪表或显示屏幕所组成。OD 值是许多溶液中溶质定量的方便指标之一，通过所产生的单色光来测定某一溶液对该单色光的吸收值，利用它可进行核酸溶液定量和纯度的初步判断。

5. 离心机

离心技术是研究生物结构和功能不可缺少的一种物理技术手段。因为各种物质在沉淀系数、浮力和质量等方面有差异，可利用强大的离心力场，使其分离、纯化和浓缩。目前有各种各样的离心机，可供少于 0.05mL 到几升的样品离心之用。离心技术应用广泛，包括收集和分离细胞、细胞器和生物大分子等。据其转速的不同，离心机可分为以下几种类型。

(1) 常速离心机：最大转速 8000r/min，最大离心力 10 000g。

医用或台式离心机：是离心机中最简单而廉价的，最常用于收集快速沉降系数的物质，如红细胞、粗大的沉淀物、酵母菌和细菌等。

低速冷冻离心机：主要用于细胞、细胞核、细胞膜及细菌的沉淀和收集等。

(2) 高速离心机：最大转速 25 000r/min，最大离心力 100 000g。有冷冻和常温两种，多用于制备和收集微生物、细胞碎片、细胞、大的细胞器、硫酸铵沉淀物及免疫沉淀物等。

(3) 超速离心机：最大转速 120 000r/min，最大离心力 500 000g。主要用于 DNA、RNA、蛋白质等生物大分子以及细胞器、病毒等的分离纯化；样品纯度检测；沉降系数和相对分子质量的测定等。

6. 超净工作台

内有紫外灯、照明灯，还应有酒精灯火焰、75%乙醇等灭菌的设备，是一种提供局部洁净度的设备。其原理是鼓风机驱动空气，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。超净台按气流方向的不同大致分为如下几种类型。

(1) 侧流式：净化后，气流从左侧或右侧通过工作台面流向对侧，或者从上往下或从下

往上流向对侧，它们都能形成气流屏障而保障台面无菌。

缺点：在净化气流和外面气体交界处，可由气体的流向而出现负压，使少量的未净化气体混入，而造成污染。

（2）外流式：气流面向操作人员的方向流动，从而保证外面气体不能混入。

缺点：在进行有害物质实验时，对操作人员不利，但可采用有机玻璃把上半部分遮挡起来，使气流从下方流出。

7. 电泳系统

电泳技术用于检测、鉴定各种生物大分子的纯度、含量及描述它们的特征，甚至还是分离、纯化、回收和浓缩样品的技术之一。核酸和蛋白质等都带有电荷，当它们被置于电场中时，能够移动。

电泳装置由两部分组成：电源装置和电泳槽装置。

（1）电源装置：电源需通过稳压器稳流，既能提供稳定的直流电，又能输出稳定的电压，可用于三种电泳仪。

常度稳压电泳仪：输出电压 0～500V，0～15mA；

中度稳压电泳仪：输出电压 400～1000V；

高度稳压电泳仪：输出电压 1000V 以上的电源装置。

（2）电泳槽装置：可分为以下两种。

水平式电泳槽：一般分为微型电泳槽和大号水平式电泳槽；

垂直式电泳槽：分垂直平板电泳槽和圆柱形电泳槽装置。

8. PCR 仪

PCR（polymerase chain reaction）仪也称 DNA 热循环仪、基因扩增仪，它使一对寡核苷酸引物结合到正负 DNA 链上的靶序列两侧，从而酶促合成拷贝数百万倍的靶序列 DNA 片段。它的每一循环包括在三种不同温度下进行的 DNA 变性、引物复性、DNA 聚合酶催化的延伸反应三个过程。

9. 凝胶成像分析系统

对电泳后含溴化乙锭（EB）核酸样品的观察分析。

10. 干燥设备

（1）真空加热干燥箱：适用于热敏性、易分解、易氧化和复杂成分物料的快速干燥。

（2）电泳凝胶干燥箱：对电泳后的凝胶进行脱水干燥的仪器，一般可将凝胶干燥到一些玻璃纸上，干燥后的凝胶易于保存。

（3）液氮冷冻干燥：适用于活性蛋白质样品的干燥与结晶。

（4）真空泵：许多实验都需要抽真空，如乙醇沉淀后核酸样品的干燥、电泳凝胶的干燥等。

11. 其他

（1）微波炉：便于一些溶液的快速加热和定温加热，电泳琼脂糖凝胶配制、溶化等。

（2）制冰机：用于制造大多数核酸、蛋白质的实验操作所需的低温环境，以减少核酸酶或蛋白酶的水解。

（3）层析装置：（色谱分离）是一种分离多组分混合物的有效物理方法。

（4）磁力搅拌器：多角度旋转混匀器、快速振荡混合器，用于混合液体和液固样品的仪器。

（5）组织匀浆器：超声组织及细胞破碎器，用其进行样品的分离提纯实验。

（6）通风橱：很多溶剂能逸出毒气，故必备通风装置，放射性实验还要有有机玻璃屏蔽。

（7）玻璃蒸馏器、电热加帽、变压器：用于酚等有机溶剂的蒸馏。

（8）真空印记系统、DNA合成/测序仪：这些都是对核酸进行深入研究的必备仪器。

（9）吸头、Eppendorf管（EP管）：微管移液器吸头（吸液尖）、EP管（微量离心管）可洗涤，用硅化消毒后可反复使用。对一些要求严格的实验，如RNA的提取、保存等操作，应使用新的消毒吸头与EP管。另外还应备有常用规格的离心管（1000mL、500mL、250mL、50mL、7mL等）及96孔、24孔、12孔、6孔的细胞培养塑料平板等。

（10）小型设备、用具：定时器、滤膜、保鲜膜、防护眼镜、鸭嘴镊、常规的玻璃或塑料器皿（包括平皿、试管、烧杯、量瓶、试剂分液漏斗，避光保存的试剂应使用棕色试剂瓶，如饱和酚、巯基乙醇等）、记号笔、各种手套（PE、乳胶、家用、防酸的等）。

1.1.2.2 部分设备的使用方法

1. 恒温空气摇床的使用

（1）将样品瓶牢固放入弹簧夹中；

（2）接通电源开关，仪器进入准备状态；

（3）参数设定（设定温度、时间、转速等参数）；

（4）按启动键仪器开始工作，按暂停键可暂停托盘的旋转；

（5）按电源键，显示屏显示消失，关闭电源总开关。

2. 超净工作台的使用

（1）使用工作台时，先用经清洁液浸泡的纱布擦拭台面，然后用消毒剂擦拭消毒。

（2）接通电源，提前30min打开紫外灯照射消毒，处理净化工作区内工作台表面积累的微生物，15min后，关闭紫外灯，开启鼓风机。

（3）工作台面上，不要存放不必要的物品，以保持工作区内的洁净气流不受干扰。

（4）操作结束后，清理工作台面，收集各废弃物，关闭风机及照明开关，用清洁剂及消毒剂擦拭消毒。

（5）最后开启工作台紫外灯，照射消毒30min后，关闭紫外灯，切断电源。

3. 低温台式高速离心机的使用

（1）把离心机置于平面桌或平面台上，目测使之平衡，用手轻摇一下离心机，检查离心机是否放置平衡。

（2）打开门盖，将离心管放入转子内，离心管必须成偶数对称放入，且要事先平衡，完毕用手轻轻旋转一下转子体，使离心管架运转灵活。

（3）关上门盖，注意一定要使门盖锁紧，完毕后用手检查门盖是否关紧。

（4）插上电源插座，按下电源开关（电源开关在离心机背面、电源座上方）。

（5）设置转子号、转速、时间：在停止状态下，用户可以设置转子号、转速、时间，此时离心机处于设置状态，停止灯亮、运行灯闪烁；按下启动键离心开始（常用，最高转速为13 000r/min，时间最长为20min）。

注意：对应的转子一定要设置在相应的转速范围内，不可超速使用，否则对试管或转子有损坏。

（6）离心机时间倒计时到“0”时，离心机将自动停止，当转子停转后，打开门盖取出离心管，关闭电源开关。

4. 微量移液器的使用

（1）将微量移液器装上吸头（不同规格的移液器用不同的吸头）。

（2）将微量移液器按钮轻轻压至第一停点。

（3）垂直握持微量移液器，使吸嘴浸入液面下几毫米，千万不要将吸嘴直接插到液体底部。

（4）缓慢、平稳地松开控制按钮，吸上样液；否则液体进入吸嘴太快，会导致液体倒吸入移液器内部，或吸入体积减小。

（5）1s 后将吸嘴提离液面。

（6）平稳地把按钮压到第一停点，再把按钮压至第二停点以排出剩余液体。

（7）提起微量移液器，然后按吸头弹射器除去吸头。

5. PCR 的使用

（1）开机：打开开关，视窗上显示“SELF TEST”。

（2）放入样品管，关紧盖子。

（3）如果要运行已经编好的程序，则直接按“Proceed”，用【箭头】键选择已储存的程序，按“Proceed”，则开始执行程序。

（4）如果要输入新的程序，则在 RUN-ENTER 菜单上用箭头键选择 ENTER PROGRAM，按“Proceed”：①命名新的程序，最多 8 个字母，输入后按“Proceed”确认（如输入字母、数字）；②输入程序步骤：输入名字后，确认，然后输入相关程序。

（5）输入完成的程序后，到 RUN-ENTER 菜单，选择新程序，开始运行。

（6）其他：用“Pause”可以暂停一个运行的程序，再按一次继续程序；用“Stop”或“Cancel”可停止运行的程序。

6. 电泳仪的使用

（1）首先用导线将电泳槽的两个电极与电泳仪的直流输出端连接，注意极性不要接反。

（2）按电源开关，显示屏出现“欢迎使用 DYY-12 型电脑三恒多用电泳仪……”等字样后，同时系统初始化，蜂鸣 4 声，设置常设值。屏幕转成参数设置状态，根据工作需要选择稳压稳流方式及电压电流范围。

（3）确认各参数无误后，按【启动】键，启动电泳仪输出程序。在显示屏状态栏中显示“Start”，并蜂鸣 4 声，提醒操作者电泳仪将输出高电压，注意安全。之后逐渐将输出电压加至设置值，同时在状态栏中显示“Run”，并有两个不断闪烁的高压符号，表示端口已有电压输出。在状态栏最下方，显示实际的工作时间（精确到秒）。

（4）电泳结束，仪器显示“END”，并连续蜂鸣提醒。此时按任一键可止鸣。

7. 高压灭菌锅

（1）开盖：转动手轮，使锅盖离开密封圈，添加蒸馏水至刚没于板上。

（2）通电：将控制面板上电源开关按至“ON”处，若水位低（LOW）则红灯亮。

（3）堆放物品：需包扎的灭菌物品，体积以不超过 200mm×100mm×100mm 为宜，各包装之间留有间隙，堆放在金属框内，这样有利于蒸汽的穿透，提高灭菌效果。灭菌时间为 121℃，20min；如为液体，液体必须装在可耐高温的玻璃器皿中，且不可装满，2/3 即可，121℃，18～20min。

（4）密封高压锅：推横梁入立柱内，旋转手轮，使锅盖下压，充分压紧。

（5）设定时间和温度，开始灭菌。

(6) 灭菌结束，所有东西放入干燥箱干燥，排尽水汽。

1.1.3 实验室的安全防护

实验室潜在各种危害因素，这些危害因素可能引发出各种事故，造成环境污染和人体伤害，甚至危及人的生命安全。因此我们不但要学习实验室安全技术和环境保护方面的有关知识，而且应该在实验中加以应用，防患于未然。

1.1.3.1 实验室常用危险品及其预防措施

生物工程专业实验室可能会遇到的易燃、易爆及有毒物质如下：

可燃性气体，如氢气、甲烷、乙烯、煤气、液化石油气、一氧化碳等；

可燃性液体，如乙醚、丙酮、汽油、苯、乙醇等；

可燃性固体，如木材、油漆、石蜡、合成纤维等，化学药品有五硫化磷、三硫化磷等；

爆炸性物质，如过氧化物、氮的卤化物、硝基或亚硝基化合物、乙炔类化合物等；

自燃物质，如磁带、胶片、油布、油纸等；

遇水燃烧物质，如活泼金属钾、钠、锂及其氢化物等；

混合危险性物质，如强氧化剂（重铬酸盐、氧气、发烟硫酸等）、还原剂（苯胺、醇类、有机酸、油脂、醛类等）；

有毒物质，如窒息性毒物（氮气、氢气、一氧化碳等）、刺激性毒物（酸类蒸气、氯气等）、麻醉性或神经毒物（芳香类化合物、醇类化合物、苯胺等）；

其他无机及有机毒物（如菌种诱变剂亚硝基胍等）和不能归入上述类型的有毒物质。

表 1-1 给出了几种常见的有毒物质在空气中的最高允许浓度。毒物侵入人体，主要是通过皮肤、消化道、呼吸道三条可能直接与毒物接触的途径。使用有毒物质时要准备好或戴上防毒面具、橡皮手套，有时要穿防毒衣装。实验室内严禁吃东西。

表 1-1　几种常见的有毒物质在空气中的最高允许浓度　　（单位：mg/m^3）

物质名称	最高允许浓度	物质名称	最高允许浓度
一氧化碳	30	酚	5
氯气	2	乙醇	1500
氨气	30	甲醇	50
氯化氢及盐酸	150	苯乙烯	40
硫酸及硫酐	10	甲醛	5
苯	500	四氯化碳	5
二甲苯	100	溶剂汽油	350
丙酮	400	汞	0.1
乙醚	500	二硫化碳	10

离开实验室应洗手，特别应注意对可能被污染的面部或身体进行认真清洗。采用通风、排毒、隔离等安全防范措施。尽可能用无毒或低毒物质替代高毒物质。实验装置尽可能密闭，防止冲、溢、跑、冒事故发生。凡是某种物质侵入人体而引起局部或整个机体发生障碍，即发生中毒事件时，应在现场做一些必要处理，同时应尽快送医院或请医生来诊治。

1.1.3.2 水、电、蒸汽的正确使用

生物工程实验室中如何保证正确使用水、电、蒸汽，不仅关系到实验的正常进行，而且

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com