



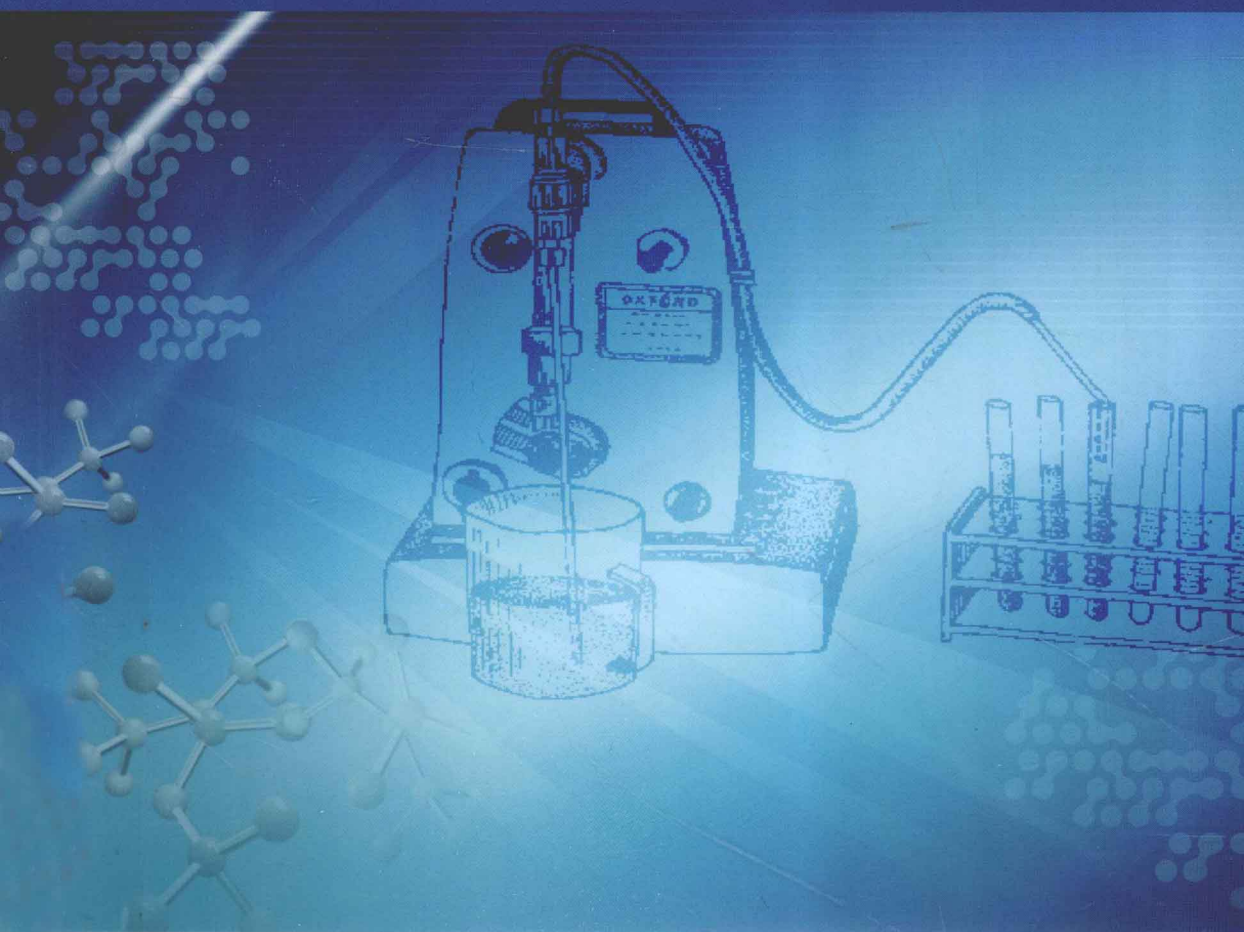
GAODENG ZHIYE JIAOYU ZHIYAO / SHENGWU ZHIYAO LEI ZHUANYE XILIE JIAOCAI

• 高等职业教育制药/生物制药类专业系列教材 •

生物制药技术 专业技能实训教程

SHENGWU ZHIYAO JISHU ZHUANYE JINENG SHIXUN JIAOCHENG

朱善元 王安平 主编



高等职业教育制药/生物制药类专业系列教材

生物制药技术专业 技能实训教程

朱善元 主编
王安平

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

生物制药技术专业技能培训教程/朱善元, 王安平主编. —北京: 中国轻工业出版社, 2010. 4

高等职业教育制药/生物制药类专业系列教材

ISBN 978-7-5019-7505-1

I. ①生… II. ①朱…②王… III. ①生物制品: 药物-制造-高等学校: 技术学校-教学参考资料 IV. ①TQ464

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 022761 号

责任编辑: 李亦兵 石悦

策划编辑: 江娟 责任终审: 张乃柬 封面设计: 锋尚设计

版式设计: 王培燕 责任校对: 李靖 责任监印: 马金路

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印刷: 三河市世纪兴源印刷有限公司

经销: 各地新华书店

版次: 2010 年 4 月第 1 版第 1 次印刷

开本: 720 × 1000 1/16 印张: 17.25

字数: 347 千字

书号: ISBN 978-7-5019-7505-1 定价: 28.00 元

邮购电话: 010-65241695 传真: 65128352

发行电话: 010-85119835 85119793 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

90331J2X101ZBW

《生物制药技术专业技能实训教程》编委会

主 编 朱善元 王安平

副 主 编 洪伟鸣

编写人员 王安平 王明珠 朱善元 洪伟鸣 崔潇婷

前 言

本书力图从当前高职教育发展要求出发,结合教学实际情况,积极探索项目课程、工学结合等人才培养模式改革,进一步完善以能力为主线的实践教学体系,规范教师的实践教学环节,为学生掌握职业岗位技能提供指导,为教师对学生技能考核提供依据。

生物制药技术专业技能实训是为了训练和培养学生进行常规生物制药工作的基本能力。根据生物制药工作的实际需要,结合生物制药技术专业教学计划和教学大纲的要求,本书首先介绍基础化学实验技术等基本技能,其次介绍微生物学实验技术、免疫学常用实验技术、药物制剂技术、微生物与药物检验技术等专业技能,最后针对生物制药常用技术,包括基因工程制药技术、细胞工程制药技术、发酵工程制药技术直到下游的生化分离技术、天然药物提取技术展开讲解。通过对生物制药技术中的各个环节、各种方法、各类生物药品的制备、各种类型的生物检测项目、检测方法及要求的训练,使学生能够独立按照标准操作规程完成常规生物制药工作。

本书体现了多门课程、多技术领域的交叉渗透,具有综合性、技术实践性、实用性和可操作性的特点,为学生应用知识、技术和满足岗位需要奠定良好基础。

本书在实际教学过程中,应结合各学期所学课程,有选择地进行训练。本书适用于生物制药技术专业,也可作为生物技术专业等相关岗位的岗前培训和继续教育的参考书。

本书的编者均为具有生物制药教学经验的中青年教师和实验技术人员。由于编者水平有限,加上编写时间仓促,书中不足之处在所难免,恳切希望读者给予批评和指正。

中国轻工业出版社生物专业教材目录

本科教材

微生物工程	35.00 元
数值分析	24.00 元
工业生物技术专业英语	29.00 元
生物制药工程专业英语	37.00 元
固态发酵工程原理及应用	30.00 元
生化工程（第二版）	30.00 元
生物化学学习指导	32.00 元
生物工程工厂设计概论	36.00 元
生物制药技术（第二版）	45.00 元
氨基酸工艺学	42.00 元
生物工艺技术	35.00 元
微生物学	35.00 元
微生物学实验技术	28.00 元
酶工程	34.00 元
酶学原理和酶工程	40.00 元
生物工程专业实验（天津市高校“十五”规划教材）	25.00 元
生物工业下游技术（普通高等教育“九五”国家级重点教材）	26.00 元
微生物工程原理	40.00 元
生物工程分析与检验	34.00 元
生物化学	64.00 元
发酵生物技术专业英语	20.00 元
生物工程设备	50.00 元
工业发酵分析	20.00 元
生物制药技术	38.00 元
发酵工业概论	30.00 元
生物化学	40.00 元
氨基酸发酵工艺学	42.50 元
细胞生物学	32.00 元
生物工程概论	12.00 元
代谢控制发酵	32.00 元
生化工程	14.00 元
微生物学（第二版）	34.50 元

环境生物技术	30.00 元
--------	---------

高职高专教材

高职制药/生物制药系列

临床医学概要	28.00 元
医药商品学	48.00 元
药物化学	26.00 元
药品检验技术	26.00 元
中药学概论（普通高等教育“十一五”国家级规划教材）	30.00 元
生物制药工艺学	26.00 元
制药设备	26.00 元
药事管理与法规	39.00 元
药理学	32.00 元
药物制剂技术（普通高等教育“十一五”国家级规划教材）	34.00 元
药品营销原理与实务	36.00 元
药剂学	35.00 元
药品检验	35.00 元

高职生物技术系列

啤酒生产技术	35.00 元
发酵食品生产技术	32.00 元
生物分离技术	25.00 元
生物工程设备及操作技术	48.00 元
生物检测技术	24.00 元
发酵工艺原理	30.00 元
生物化学技术	28.00 元
生物检测技术	24.00 元
食用菌生产技术	35.00 元
现代生物技术概论	28.00 元
植物组织培养	28.00 元
微生物学	40.00 元
氨基酸发酵生产技术	30.00 元
生物化学	30.00 元
化工原理	48.00 元
有机化学	20.00 元
发酵工艺教程	24.00 元
发酵食品工艺学	28.00 元

中职教材

啤酒工艺学	36.00 元
生物化学	15.50 元
发酵工厂设备	45.25 元
微生物学	15.00 元
酒精工艺学	18.00 元
发酵调味品工艺学	20.00 元

职业资格培训教程

白酒酿造工教程（上）	26.00 元
白酒酿造工教程（中）	22.00 元
白酒酿造工教程（下）	38.00 元

购书办法：各地新华书店，本社网站（[www. chlip. com. cn](http://www.chlip.com.cn)）、当当网（[www. dangdang. com](http://www.dangdang.com)）、卓越网（[www. joyo. com](http://www.joyo.com)）、轻工书店（联系电话：010-65128352），我社读者服务部（联系电话：010-65241695）。

目 录

实训项目一 一般化学实验技术	(1)
实验一 分析天平的使用和称量技术	(1)
实验二 容量分析仪器的使用与校正	(5)
实验三 缓冲溶液的制备	(14)
实验四 滴定分析技术	(16)
一、混合碱的分析——酸碱滴定法	(16)
二、络合滴定法测定水的硬度	(18)
三、沉淀滴定法测定氯化物中氯含量	(21)
四、酸碱滴定法测定维生素 C 的含量	(24)
实验五 紫外可见分光光度法	(26)
实验六 红外分光光度法	(28)
实验七 高效液相色谱法	(30)
实训项目二 生物大分子含量测定技术	(34)
实验一 蛋白质含量测定技术	(34)
一、凯氏定氮法	(34)
二、双缩脲法	(37)
三、福林 - 酚试剂 (Lowry) 法	(38)
四、考马斯亮蓝法	(40)
实验二 核酸含量测定技术	(41)
一、紫外吸收法	(42)
二、定磷法	(44)
实验三 血糖含量测定技术	(46)
实验四 血清总胆固醇含量测定技术	(48)
实验五 粗脂肪含量测定技术	(49)
实训项目三 微生物学实验技术	(52)
实验一 微生物实验室常用仪器的使用与维护	(52)
实验二 消毒与灭菌技术	(56)
一、高压蒸汽灭菌法	(56)
二、干热灭菌法	(57)
三、紫外线灭菌法	(58)
四、过滤除菌法	(59)

实验三	培养基的配制	(60)
实验四	微生物的染色与形态观察技术	(63)
一、	细菌的单染色法	(63)
二、	细菌的革兰染色法	(65)
三、	放线菌的形态观察	(66)
四、	水浸片观察酵母	(68)
五、	水浸片观察霉菌	(69)
实验五	微生物纯培养技术	(71)
实验六	微生物大小测定技术	(74)
实验七	微生物数量测定技术	(76)
一、	显微镜直接计数法	(77)
二、	平板菌落计数法	(79)
三、	细菌生长曲线测定技术	(81)
四、	噬菌体效价的测定	(83)
实验八	病毒接种技术	(84)
实验九	微生物生化反应	(90)
实验十	菌种保藏技术	(94)
实训项目四	免疫学常用实验技术	(100)
实验一	抗原及免疫血清的制备	(100)
实验二	凝集试验	(102)
实验三	沉淀试验	(104)
实验四	双向琼脂扩散试验	(106)
实验五	血凝试验及血凝抑制试验	(108)
实验六	酶联免疫吸附试验	(111)
实训项目五	药物制剂基本技术	(115)
实验一	液体制剂的制备	(115)
实验二	乳剂的制备	(117)
实验三	浸出制剂的制备	(119)
实验四	注射剂的制备	(120)
实验五	滴眼剂的制备	(122)
实验六	散剂与颗粒剂的制备	(123)
实验七	片剂的制备	(125)
实训项目六	微生物与药物检验技术	(129)
实验一	体外抑菌试验	(129)
一、	琼脂扩散法	(129)
二、	连续稀释法	(130)

实验二 抗生素效价的微生物测定	(132)
实验三 药品的无菌检查	(135)
实验四 药品的染菌量检查	(137)
实验五 药品的控制菌检查	(140)
一、大肠杆菌的检查	(140)
二、沙门菌的检查	(143)
三、金黄色葡萄球菌的检查	(146)
四、铜绿假单胞菌的检查	(149)
五、破伤风梭菌的检查	(151)
实验六 药品的热原检查	(153)
实验七 药品的异常毒性检查	(155)
实训项目七 基因工程制药技术	(158)
实验一 碱裂解法提取质粒 DNA	(158)
实验二 水平式琼脂糖凝胶电泳法检测 DNA	(160)
实验三 DNA 的限制性内切酶酶切分析	(162)
实验四 大肠杆菌感受态细胞的制备和转化	(163)
实验五 基因的 PCR 扩增	(165)
实验六 重组质粒的连接、转化及筛选	(168)
实验七 外源基因在大肠杆菌中的表达	(170)
实训项目八 细胞工程制药技术	(174)
实验一 动物细胞培养用液的配制和无菌处理	(174)
实验二 动物细胞原代培养技术	(177)
实验三 动物细胞传代培养技术	(178)
实验四 细胞冻存技术	(180)
实验五 细胞常规复苏技术	(181)
实验六 细胞融合技术	(182)
实验七 细胞克隆技术	(185)
实训项目九 发酵工程制药技术	(188)
实验一 台式自控发酵罐的原理、构造和使用技术	(188)
实验二 固定化生物催化剂的制备技术	(194)
实验三 发酵染菌的分析与防治技术	(195)
实验四 发酵产物的提取与纯化技术	(197)
实训项目十 生物药物的生化分离技术	(200)
实验一 提取与沉淀分离技术	(200)
一、大肠杆菌细胞的超声波破碎	(200)
二、枯草芽孢杆菌碱性磷酸酶的提取与盐析	(201)

实验二 层析分离技术	(203)
一、氨基酸的纸层析	(203)
二、凝胶色谱法分离蛋白质	(204)
三、离子交换色谱分离氨基酸	(206)
实验三 电泳技术	(208)
一、蛋白质的醋酸纤维薄膜电泳	(208)
二、蛋白质的聚丙烯酰胺凝胶电泳	(209)
实验四 离心分离技术	(211)
一、细菌核糖体的分离	(211)
二、大肠杆菌细胞膜的分离	(212)
实验五 膜分离技术	(213)
实验六 萃取分离技术	(214)
实验七 浓缩干燥技术	(216)
一、蛋白质的真空浓缩	(216)
二、蛋白质的冷冻干燥	(218)
实训项目十一 天然生物材料提取制药技术	(221)
实验一 L-胱氨酸的制备及鉴定	(221)
实验二 盐析法制备免疫球蛋白	(223)
实验三 牛乳中酪蛋白和乳蛋白素粗品的制备	(224)
实验四 甘露醇的制备及鉴定	(225)
实验五 溶菌酶的制备	(227)
实验六 银杏黄酮的提取	(229)
实验七 香菇多糖的提取分离	(231)
附录一 常用溶液的配制	(233)
附录二 常用培养基的配制	(241)
附录三 常用酸碱指示剂的配制	(255)
附录四 常用染色液的配制	(257)
参考文献	(260)

实训项目一 一般化学实验技术

一般化学实验技术是生物制药专业技能的基础，本部分主要介绍分析天平的使用和称量技术、容量分析仪器的使用与校正、缓冲溶液的制备、滴定分析技术、紫外可见分光光度法、红外分光光度法、高效液相色谱法七项实验。熟练掌握这些实验技术以及各种仪器的规格和使用方法，对生物药物制备、分离、分析和鉴别等具有重要意义。

实验一 分析天平的使用和称量技术

【实验目的】

- (1) 了解分析天平的种类、设计原理和各部件的名称。
- (2) 了解分析天平的计量性能，学会分析天平零点的调节。
- (3) 初步掌握分析天平的使用方法和称量技术。

【实验原理】

1. 分析天平的称量原理

分析天平是依据杠杆原理设计的。

设有一杠杆 AB (图 1-1), O 为支点, AO 、 BO 为杠杆的两臂, 长度为 l_1 、 l_2 , 即天平的两臂长。假定天平左盘中放置质量为 m_1 的某物体, 为了测出 m_1 , 在右盘上添加砝码 (已知质量的物体), 直至天平指针重新回到平衡状态。设在右盘中加入砝码的质量为 m_2 , 则根据力矩相等的原理, 作用于两臂的力 F_1 、 F_2 与两臂长 l_1 、 l_2 的关系为:

$$F_1 \times l_1 = F_2 \times l_2$$

因为 $F_1 = m_1g$, $F_2 = m_2g$, 式中 g 为重力加速度,

对于等臂天平来说, $l_1 = l_2$

所以, $m_1 = m_2$

即当等臂天平称量平衡时, 其称量结果是用砝码质量表示物体质量。

值得一提的是, 等臂天平是一种称量物体质量 (而不是重量) 的仪器。物体的重量和质量虽然是两个不同的概念, 但人们长期以来习惯于将物体的质量叫重量, 所以本书也广义地应用“重量”

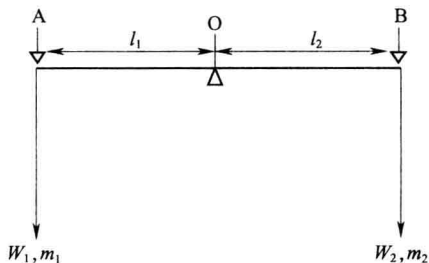


图 1-1 等臂天平原理

一词表示质量，而不一一加以区别。

2. 分析天平的结构

常用的分析天平有阻尼分析天平、半自动电光分析天平、全自动电光分析天平、电子分析天平等。TG-328B 型半机械加码电光天平的构造主要包括天平箱、天平梁、立柱、悬挂系统、制动系统、光学读数系统、砝码及机械加码装置等部分（图 1-2）。

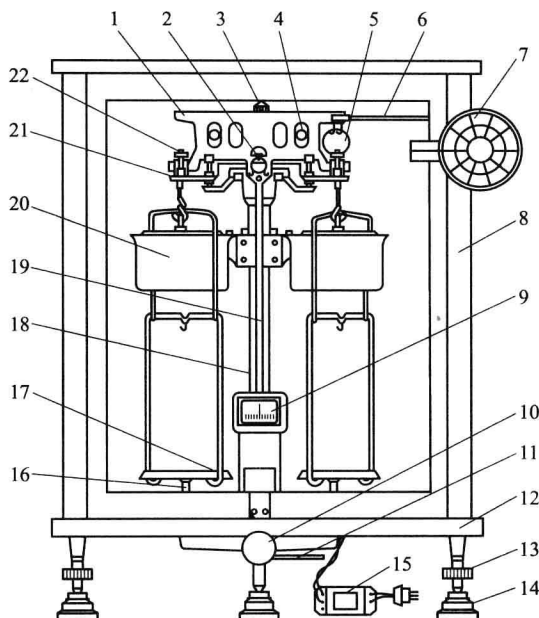


图 1-2 TG-328B 型半机械加码电光天平

- 1—天平梁 2—支点刀 3—重心螺丝 4—平衡螺丝 5—环码 6—加码杠杆 7—指数盘
8—天平箱 9—光幕 10—升降枢纽 11—调零杆 12—底板 13—天平脚 14—脚垫
15—变压器 16—盘托 17—天平盘 18—天平柱 19—指针 20—阻尼筒 21—翼翘板 22—吊耳

3. 分析天平的使用规则

(1) 称量前的检查

- ① 检查天平罩是否取下，并折叠好，按规定放在天平箱的右上方。
- ② 被称物的温度与天平箱内的温度是否相同，被称物的外部是否干燥和清洁。
- ③ 天平底板和天平盘是否清洁。如有灰尘，可用毛刷轻轻刷净。
- ④ 天平是否处于水平状态。
- ⑤ 天平各部件是否处于应有的正常状态，特别注意吊耳和环码的位置是否正常。

⑥ 测定天平的零点。

(2) 称量规则

① 称量时，称量者必须面对天平正中端坐。必须用指定的天平和砝码完成一个实验的全部称量，不得中途更换天平或砝码。

② 被称物和砝码只能由边门取放。称量时，不得打开前门。

③ 不准在天平开启状态取放被称物和砝码。开启和关闭天平时，动作要轻缓，切勿用力过猛，以保护刀刃不受撞击损伤。

④ 被称物和砝码应放在天平盘中央。被称物的质量不得超过天平的最大载荷。称量物外形不宜过大。

⑤ 使用机械装置加码时，转动读数指数盘动作要轻缓。估计被称物的质量，按“由大到小，中间截取”的原则选用砝码。先微微开启天平进行观察，当指针的偏转在标牌范围内时，方可全开启天平。

⑥ 读数时，应关闭天平的门，以免气流影响指针的摆动。

⑦ 称量结束后，立即将称量结果记录在记录本上。关闭天平，取出被称物、砝码，将指数盘恢复原位，关好门，盖好罩，填写好使用卡，经教师检查允许后，方可离开天平室。

⑧ 切勿将天平盘上的等重表面皿带走。

⑨ 搬运天平时，应将横梁和悬挂系统拆卸下来。

4. 试样的称量方法

在分析过程中，根据不同的称量对象，采用不同的称量方法，一般有直接称量法、差减称量法和固定质量称量法等。

【实验材料】

1. 器材

台秤、分析天平（TG-328B 型）、干燥器、称量瓶、小烧杯。

2. 试剂

无水 Na_2CO_3 、 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 。

【实验步骤】

1. 直接称量法

先在台秤上粗称称量瓶质量 m_0 ，记在记录本上。然后按粗称质量在分析天平上加好克重砝码，只要调节指数盘就可准确称出称量瓶的质量 m_1 （准确至 0.1mg）。

2. 差减称量法

差减称量法称量时，先在称量瓶（图 1-3）中放入被称试样，准确称取瓶和试样的总质量，然后向接受容器中倒出所需要的试样，再准确称量剩余试样和称量瓶的质量，两次称量的质量差即为倒入接受器中的试样质量（图 1-4）。如此重复操作，可连续称取若干份样品。

如果一次倾出的量不到所需量，可再次倾倒样品，直到倾出的样品质量满足要求后（一般在欲称质量的 $\pm 10\%$ 以内为宜），再记录第二次天平读数。

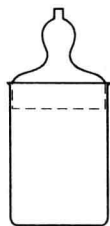


图 1-3 称量瓶



图 1-4 差减称量法倒样操作

3. 固定质量称量法

具体方法如下：先在天平上准确称出洗净干燥的小表面皿或小烧杯等敞口容器的质量，加好所需药品量的砝码，在天平半开状态下小心缓慢地用小药匙或窄纸条将试样加到容器中，在接近所需量时，应用食指轻弹小勺，使试样一点点地落入容器中，直至所指定的质量为止。如果要称取的试样转入其他容器中，则注意要全部转移。

【实验结果】

将差减称量法结果记录于表 1-1。

表 1-1

差减称量法数据记录

项 目	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(称量瓶 + 试样) 的质量 (倾出前) m_1/g										
(称量瓶 + 试样) 的质量 (倾出后) m_2/g										
倾出试样的质量 m/g										

附：电子天平

电子天平是 20 世纪 60 年代中期发展起来的一类天平。它利用非电量电测技术以位置传感器感受天平负载，并验出与负载具有确定关系的电量，通过模拟数学显示直接读出负载物体的质量。或使电感器的电信号反馈通过回零装置，或力线圈产生复原力使天平恢复零位，通过测定与复原力相应的电量表示物体质量，以达到衡量的目的。电子天平具有操作简单、称量速度快、准确度高、使用寿命长和数字显示等优点，可去皮，自校，连接打印机或计算机打印称量值，或进行计数，计算（数理统计）。

1. 使用方法

(1) 调水平。与国产 TG328-B 型电光半机械加码分析天平调水平的方法基本相同。

(2) 接通电源，按一下“ON/OFF”按钮，然后等待屏出现 0.0000g。

(3) 按一下“CAL”按钮，显示屏即出现“C”，继而出现“CC”，等待出

现 0.0000g (具体根据电子天平的使用说明书操作)。

(4) 将被称物放于秤盘中央, 关闭天平门, 待显示屏显示的数值稳定后, 此数值即为被称物质量。

(5) 按一下“ON/OFF”按钮关机。

当采用递减称量法时, 先按上述步骤称得称量瓶和瓶中样品总重, 然后按一下“TARE”或“T”(去皮)按钮, 显示屏上显示的数值消失, 继而显示出 0.0000g (即已将秤盘上物品的质量自动除去), 此后即可取出称量瓶敲取样品 (注意: 当取下称量瓶后, 显示屏上数值不再是 0.0000g, 此时不要再按任何按钮)。敲取出部分样品将称量瓶放回秤盘后, 显示屏显出的数值即为已敲出的样品质量 (数值前面的“-”号表示已取出)。

2. 注意事项

- (1) 严格按上述操作步骤进行。
- (2) 按下按钮时不可用力太大。
- (3) 不得随意改变天平的位置, 否则必须重新调水平。
- (4) 用完后关好天平并罩好, 切断电源。

实验二 容量分析仪器的使用与校正

【实验目的】

学会容量瓶、移液管、吸量管、滴定管等常用滴定仪器的使用方法。

【实验原理】

1. 移液管和吸量管

移液管和吸量管都是用来准确移取一定体积溶液的量器 (图 1-5)。移液管和吸量管均为量出式量器, 两者的洗涤方法和使用方法基本相同。

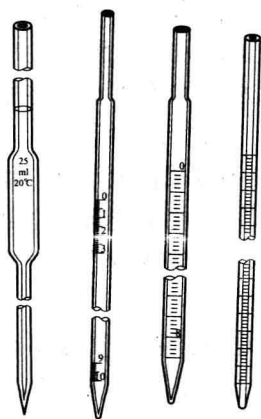


图 1-5 移液管与吸量管

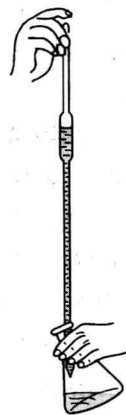


图 1-6 移液管的使用