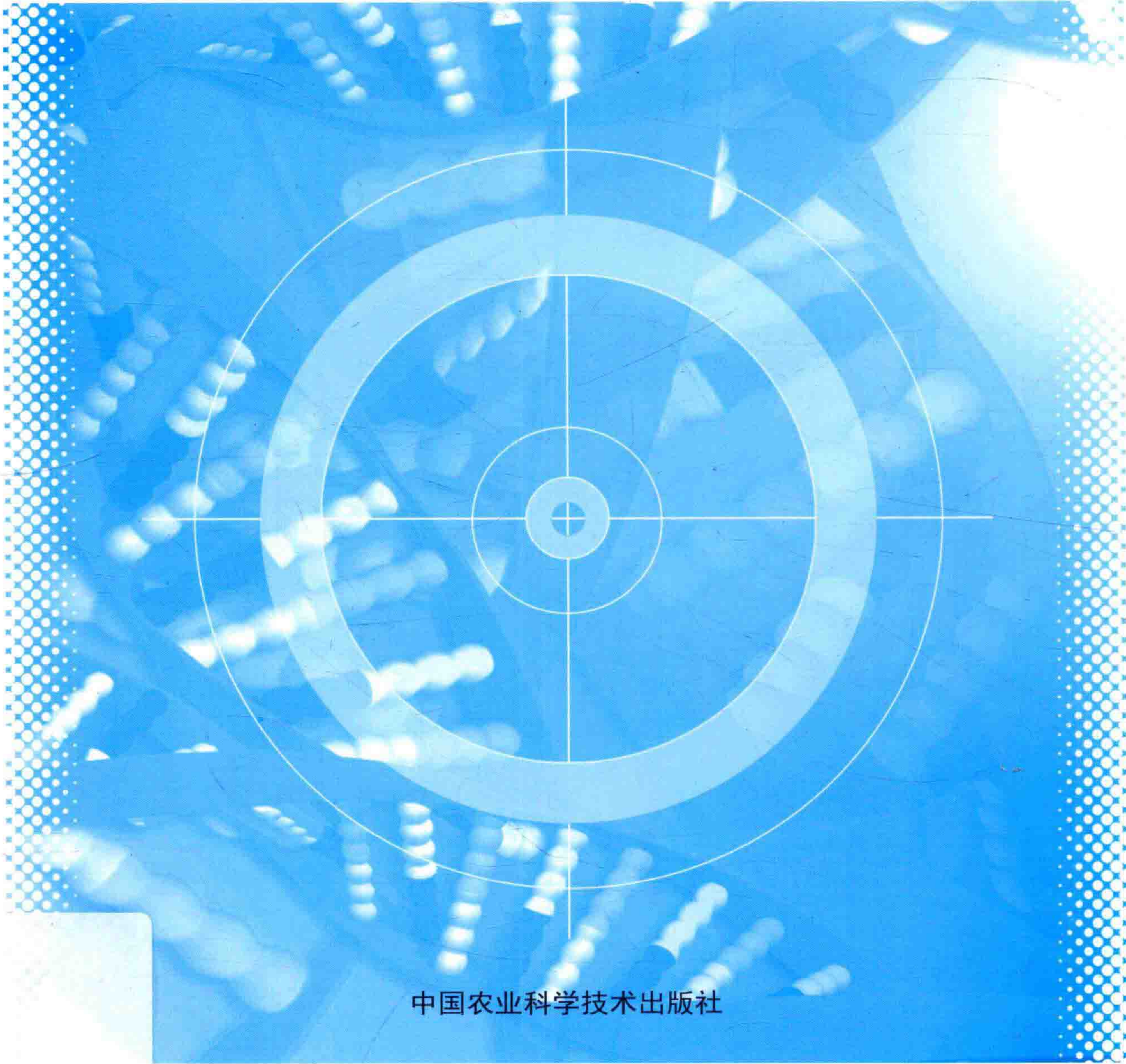


北京市教委科研计划项目，项目编号：KM201610020006
国家青年科学基金项目，项目编号：31401371

基因工程

实验指南

● 李玮瑜 李 姍 张洪映 主编



中国农业科学技术出版社

北京市教委科研项目，项目编号：KM201610020006
国家青年科学基金项目，项目编号：31401371

基因工程

实验指南

● 李玮瑜 李 姍 张洪映 主编



中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

基因工程实验指南 / 李玮瑜, 李姍, 张洪映主编. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2017.2

ISBN 978-7-5116-2972-2

I. ①基… II. ①李… ②李… ③张… III. ①基因工程—实验—高等学校—教材 IV. ① Q78-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2017) 第 025371 号

责任编辑 张孝安 崔改泵

责任校对 贾海霞

出版者 中国农业科学技术出版社

北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电话 (010) 82109708 (编辑室) (010) 82109704 (发行部)

(010) 82109703 (读者服务部)

传真 (010) 82106650

网址 <http://www.castp.cn>

经销者 各地新华书店

印刷者 北京富泰印刷有限责任公司

开本 710 mm × 1000 mm 1/16

印张 14

字数 400 千字

版次 2017 年 2 月第 1 版 2017 年 2 月第 1 次印刷

定价 40.00 元

《基因工程实验指南》

主 编 李玮瑜 李 姍 张洪映

副主编 李高峰 李云乐

前言

PREFACE

《基因工程实验指南》是由具有丰富实验教学及科研经验的人员编写，主要介绍植物分子生物学实验中基本技术的原理和操作流程，按照实验进程的顺序，由浅入深，由简至繁，向初学者逐步介绍各种实验操作技术。本书的设计围绕着综合两字展开，它不是由彼此孤立的、相互间缺乏内在联系的一个个实验组成的，而是把生物学研究中最常用的那些实验技术，按照逻辑顺序有机地揉合在一起，构成了一个前后连贯、相互呼应的整体，从而体现了实验的综合性。

《基因工程实验指南》共分七个章节：第一章系统介绍了关于仪器设备的工作原理和使用规范；第二章主要介绍了核酸提取、分离和纯化实验方法，并对实验相关的理论进行了比较系统的阐述；第三章详细介绍了不同物种中蛋白质的提取、分离和纯化的技术手段；第四章主要介绍了载体构建所需的程序及原理；第五章列举了常用的探究蛋白质之间互作的手段和技术；第六章详细介绍了如何利用不同的技术手段转化作物；第七章概括介绍了常用试剂的配制方法。

《基因工程实验指南》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实验教学用书。主要面向高等本科院校生命科学、作物学及分子生物学初级研究者。

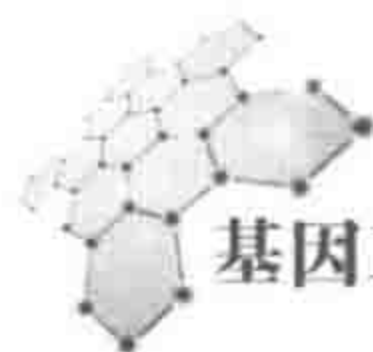
编者

2016年12月

目 录

CONTENTS

第一章 仪器设备	001
分子生物学实验室常用仪器设备简介	001
第二章 核 酸	009
第一节 核酸的构成	009
第二节 基因组 DNA 的提取	014
第三节 TENS 法提取微生物基因组 DNA	018
第四节 DNA 的扩增	019
第五节 DNA 片段的琼脂糖凝胶电泳和回收纯化	021
第六节 DNA 重组及鉴定	028
第七节 核酸分子杂交技术	031
第八节 Southern blotting 技术	041
第九节 植物总 RNA 的提取和检测	048
第十节 poly (A) + RNA 的提取	051
第十一节 无菌感染期线虫 RNA 的提取	051
第十二节 果蝇总 RNA 的提取	053
第十三节 哺乳动物 RNA 的提取	054
第十四节 反转录 RNA	055
第十五节 半定量 PCR 技术	056
第十六节 实时荧光定量 PCR 技术	057
第十七节 Northern blotting 技术	059
第十八节 核酸染色	061
第十九节 双脱氧链终止法测序技术	064
第二十节 焦磷酸测序 (Pyrosequencing)	066
第二十一节 核酸信息分析	068



第三章 蛋白质 080

第一节	定量蛋白质组学.....	084
第二节	植物蛋白的提取.....	085
第三节	动物蛋白质的提取.....	088
第四节	动物细胞器蛋白的提取.....	089
第五节	细菌蛋白质的提取.....	093
第六节	原核表达.....	094
第七节	用 IPTG 诱导大肠杆菌表达重组绿色荧光蛋白	098
第八节	蛋白质的定量.....	099
第九节	聚丙烯酰胺变性凝胶电泳.....	104
第十节	非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳.....	108
第十一节	双向凝胶电泳.....	110
第十二节	Western blotting 技术	114
第十三节	蛋白质转印实验 半干式.....	116
第十四节	蛋白质转印实验 电泳液式	118
第十五节	蛋白质染色.....	119
第十六节	染色质免疫沉淀技术 (ChIP)	121
第十七节	凝胶迁移实验 (EMSA)	125
第十八节	超迁移 EMSA (Super-Shift EMSA)	129
第十九节	蛋白质序列分析.....	131

第四章 载体构建及扩繁 132

第一节	DNA 限制性内切酶酶切分析	132
第二节	PCR 产物连接	135
第三节	连接产物的转化.....	136
第四节	挑菌与摇菌.....	140
第五节	保菌.....	141
第六节	菌液 PCR 检测	141
第七节	质粒提取.....	142
第八节	质粒 DNA 的电泳检测	145
第九节	ABI3730XL 测序实验程序	146

第十节	感受态细胞的制备	151
第十一节	农杆菌转化法	152
第十二节	基于毛细管电泳的荧光检测 SSR 实验程序	153
第五章 蛋白质—蛋白质相互作用		156
第一节	目标蛋白的亚细胞定位	156
第二节	酵母双杂交	160
第三节	酵母文库的筛选	164
第四节	免疫共沉淀	165
第五节	GST 融合蛋白进行 Pulldown 实验	168
第六节	双分子荧光互补 (BiFC)	169
第七节	荧光共振能量转移 [Fluorescence resonance energy transfer (FRET)]	175
第八节	Far Western blotting 印迹法	176
第九节	酵母单杂交实验	179
第十节	原生质体提取及转化步骤	180
第六章 作物转化		183
第一节	浸蘸法转化拟南芥	185
第二节	农杆菌侵染法转化烟草	187
第三节	烟草瞬时表达	190
第四节	农杆菌侵染法水稻	191
第五节	生理指标的测定	193
第七章 常用试剂的配制		197
第一节	抗生素溶液的配制	197
第二节	常用缓冲液的配制	198
第三节	常用培养基的配制	207
参考文献		211

第一章 仪器设备

分子生物学实验室常用仪器设备简介

一、实验原理

1. 恒温气浴摇床

用于对温度和振荡频率有较高要求的细菌培养、发酵、杂交、生化反应及酶和组织研究等。

2. 超净工作台

用于分子生物学无菌操作。

3. 低温台式高速离心机

用于分离纯化 DNA 和蛋白质等，如基因片段的分离，蛋白酶的沉淀和回收等。

4. 微量移液管

该仪器是连续可调的，计量和转移液体的专用仪器，其装有直接读数容量计。有多种规格：① 0.5~10ml；② 10~100ml；③ 20~200ml；④ 100~1 000ml。

5. 电泳仪

用于确定大分子物质的分子量以及鉴定物种亲缘关系的仪器。

6. PCR 仪

用于目的基因的扩增，是一对寡糖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为百万倍的靶序列 DNA 片段。主要用于基础研究和应用研究等领域。

7. 灭菌锅

用于细菌和细胞培养及核酸等有关实验使用的试剂，器皿及实验用具的严格灭菌。

8. 冷冻离心机

低温分离技术是分子生物学研究中必不可少的手段。基因片段的分离、酶蛋白的沉淀和回收以及其他生物样品的分离制备实验中，都离不开低温离心技术，因此低温冷冻离心机已成为分子生物学研究中必需的重要工具。

9. 数字式酸度计

数字式酸度计设计精良，使用非常方便。能自动地补偿测量中由于温度变化产生的误差。

仪器测得的 pH 值、MV 或温度值，可由仪器的液晶显示屏上读出，显示屏并具有背光功能。仪器还能内置式充电，使用人员可携带到户外经行操作测量。底电压提醒用户及时充电。

10. 分光光度计

不同物质对不同波长入射光的吸收程度各不相同，从而形成特征性的吸收光谱。分光光度法不仅适应于可见光区，同时还可扩展至紫外光区及红外光区，因此给科研实验带来了极大方便。下面重点介绍分光光度计的使用及注意事项。

11. 分析天平

分析天平是定量分析工作中不可缺少的重要仪器，充分了解仪器性能及熟练掌握其使用方法，是获得可靠分析结果的保证。分析天平的种类很多，有普通分析天平、半自动、全自动加码电光投影阻尼分析天平及电子分析天平等。

二、实验仪器

恒温气浴摇床、超净工作台、低温台式高速离心机、微量移液管、灭菌锅、PCR 仪、电泳仪、冷冻离心机、数字式酸度计、分光光度计和分析天平。

三、操作步骤

1. 恒温气浴摇床的使用

- (1) 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，先经过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，开启送风机。
- (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) 把离心机放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, 即在停止状态下时, 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; 按下启动离心开始 (常用, 最高转速为 13 000rpm/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, 关断电源开关。

4. 微量移液管的使用

(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, 使吸嘴浸入液样面下几毫米, 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, 导致液体倒吸入移液器内部, 或吸入体积减少。

(5) 等 1min 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, 然后按吸嘴弹射器除去吸嘴。

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 (如何输入字母、数字)。② 输入程序步骤: 名字输入后, 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

电泳技术是分子生物学研究不可缺少的重要手段。电泳一般分为自由界面电泳和区带电泳大类, 自由界面电泳不需支持物, 如等速电泳、密度梯度电泳及显微电泳等, 这类电泳目前已很少使用。区带电泳需用各种类型的物质作为支持物, 常用的支持物有滤纸、醋酸纤维薄膜、非凝胶性支持物、凝胶性支持物及硅胶—G 薄层等, 分子生物学实验中最常用的是琼脂糖凝胶

电泳。应用电泳法可以对不同物质进行定性或定量分析,或将一定混合物进行组分分析或单个组分提取制备。

(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联接,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,设置常设置。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,添加蒸馏水刚没至板上。

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

(3) 堆放物品。需包扎的灭菌物品,体积不超过 $200\text{mm} \times 100\text{mm} \times 100\text{mm}$ 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: 121°C , 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°C , 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,排尽水气。

8. 冷冻离心机

离心机应放置在水平坚固的地面上,应至少距离 10cm 以上且具有良好的通风环境中,周围空气应呈中性,且无导电性灰尘、易燃气体和腐蚀性气体,环境温度应在 $0\sim 30^{\circ}\text{C}$,相对湿度小于 80%。试转前应先打开盖门,用手盘动转轴,轻巧灵活,无异常现象方可上所用的转头。转子准确到位后打开电源开关,然后用手按住门开关,再按运转键,转动后立即停止,并观察转轴的转向,若逆时针旋转即为正确,机器可投入使用。

(1) 离心机应放置在水平坚固的地板或平台上,并力求使机器处于水平位置以免离心时造成机器震动。

(2) 打开电源开关,按要求装上所需的转头,将预先以托盘天平平衡好的样品放置于转头样品架上(离心筒须与样品同时平衡),关闭机盖。

(3) 按功能选择键,设置各项要求:温度、速度、时间、加速度及减速度,带电脑控制的机器还需按储存键,以便记忆输入的各项信息。

(4) 按启动键,离心机将执行上述参数进行运作,到预定时间自动关机。

(5) 待离心机完全停止转动后打开机盖,取出离心样品,用柔软干净的布擦净转头和机腔

内壁，待离心机腔内温度与室温平衡后方可盖上机盖。

(6) 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，并要求有良好的接地线。
- ② 开机前应检查转头安装是否牢固，机腔有无异物掉入。
- ③ 样品应预先平衡，使用离心筒离心时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 擦拭离心机腔时动作要轻，以免损坏机腔内温度感应器。
- ⑥ 每次操作完毕应作好使用情况记录，并定期对机器各项性能进行检修。
- ⑦ 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。

附：相对离心力与每分钟转速的换算。

离心机的转速，在以前实验资料中一般以每分钟多少转来表示。由于离心力不仅为转速函数，亦为离心半径的函数，即转速相同时，离心半径越长，产生的离心力越大。因此仅以转速表达离心力是不够科学的，近年来主张用相对离心力（RCF）来表示比较合理。现在国际资料中，已改用相对离心力来表示。

9. 数字式酸度计

(1) 准备工作。

- ① 仪器应平放在符合使用环境的工作台上，依视觉角度支起支架。
- ② pH 值的定位测量法。

(2) 二点定位法（高精度测量方法）。

① 连接好电极线路，将参比电极及活化满 24h 以上清洁的 pH 电极移入第一标准缓冲液 pH1 值中（例 pH1 值 = 4.00），待仪器响应稳定后，调节定位旋钮至仪器显示为“0.00”。

② 将电极系统从第 1 种标准液中取出，用去离子水冲洗干净后以滤纸吸干电极表面水分，移入第 2 种标准液（例 pH2 值 = 9.18）中，仪器响应稳定后，调节斜率旋钮，使仪器显示为（ $\Delta \text{pH 值} = \text{pH1 值} - \text{pH2 值} = 9.18 - 4.00 = 5.18$ ）此后斜率旋钮不可再动，除非更换电极系统。

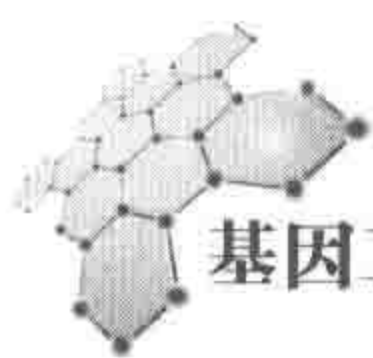
③ 斜率调节完成后，重新调节定位旋钮，使仪器显示第 2 种标准液的实际 pH 值（9.18），至此 2 点定位结束。

④ 将电极从第 2 种标准液中取出冲洗、吸干后移入待测溶液中，仪器响应稳定后显示的数值即为待测溶液的 pH 值。

(3) 一点定位法（粗略测量法）。

- ① 将温度补偿旋钮调至溶液温度值。
- ② 向左将斜率补偿旋钮旋转至头。
- ③ 将电极系统移入标准液中（一点法仅用一种标准液，如 pH 值 = 4.00 时），调节定位旋钮使仪器显示“4.00”。

④ 取出电极冲洗吸干水分后移至待测溶液中，仪器响应稳定后显示的数值即为待测溶液



的 pH 值。

(4) 温度的测量。

① 将功能选择拨至温度档。

② 将温度探头插入插孔, 并将温度探头置于环境条件或溶液中, 仪器响应稳定后仪器显示值即为环境条件或溶液温度值。

(5) 注意事项。

① 认真做好仪器使用前准备工作。

② 仪器通电后或测量过程中出现显示不稳或乱跳现象, 应切断电源进行检查, 如电压、预热时间及电极系统等是否正常。

③ 使用不同电极应注意排除离子的干扰, 选择好盐桥, 必要时使用离子强度固定剂。

④ 电极系统从第 1 种溶液取出移入第 2 种溶液之前, 须用去离子水或双蒸水清洗干净, 再用滤纸吸干表面水分, 以免影响测定结果的准确性。

⑤ 仪器应存放于干燥、清洁无腐蚀的场所, 每次测量结束后应关闭电源, 退出电极及温度探头妥善保存。玻璃电极清洗后可浸于去离子水待用(注意水面不得低于玻璃球泡), 甘汞电极清洁后套上橡皮帽置于配套盒中保存, 当甘汞电极内充液泄漏或不饱和及盐桥中断时, 应及时补充饱和内充液。

⑥ 该类仪器均采用大规模集成电路, 输入阻值较高, 在对仪器内部进行任何零部件修理焊接时, 应使用 45 W 以下有良好地线的烙铁, 无接地线烙铁应拨下电源插头焊接。

(6) pH 值(酸碱度)测量。

① 将功能选择拨至“pH”档, 调节定位旋扭, 斜率补偿旋扭及温度补偿旋扭显示值应有相应变化。

② 通过仪器温度档测定标准液及待测样品液温度(要求两种液体温度保持一致, 以减少测定误差), 并用温度补偿旋扭调节至溶液实际温度值。

10. 分光光度计

(1) 接通稳压器电源, 待稳压器输出电压稳定至 200 V 后打开光度计电源, 仪器自动进入初始化。

(2) 初始化约需时 10 min, 内容包括:

① 寻找零级光。

② 建立基线。

③ 最后当显示器指示 $\times \times \text{ nm}$ 时, 表明仪器完成初始化程序, 可进入检测状态。

(3) 按要求输入各项参数, 选择相应比色杯(玻璃或石英), 将空白管、标准管及待测管依次放入比色皿架内, 关上比色池盖。

(4) 以空白管自动调零。

(5) 试样槽依次移至样品位置, 待数据显示稳定后按“START/STOP”键, 打印机自动打印所测数据, 重复上述步骤, 直到所有样品检测完毕。

(6) 检测结束后应及时取出比色杯,并清洗干净放回原处,同时关上仪器电源开关及稳压器电源开关,做好使用情况登记。

(7) 注意事项。

① 仪器初次使用或使用较长时间(一般为1年),需检查波长准确度,以确保检测结果的可靠性。

② 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。此时对光源位置进行调整,直至达到有关技术指标为止。若经调整校正后波长准确度、暗光源漂移及亮电流漂移三项关键指标仍未符合要求,则应停止使用,并及时通知有关技术人员检修。

③ 每次检测结束后应检查比色池内有否溶液溢出,若有溢出应随时用滤纸吸干,以免引起测量误差或影响仪器使用寿命。

④ 仪器每次使用完毕,应于灯室内放置数袋硅胶(或其他干燥剂),以免反射镜受潮霉变或沾污,影响仪器使用,同时盖好防尘罩。

⑤ 仪器室应通常保持洁净干燥,室温以 $5\sim 35^{\circ}\text{C}$ 为宜,相对湿度不得超过85%。有条件者应于室内配备空调机及除湿机,以确保仪器性能稳定。

⑥ 仪器室不得存放酸、碱、挥发性或腐蚀性等物质,以免损坏仪器。

⑦ 仪器长时间不用时,应定时通电预热,每周1次,每次30min,以保证仪器处于良好使用状态。

11. 分析天平

(1) 检查并调整天平至水平位置。

(2) 事先检查电源电压是否匹配(必要时配置稳压器),按仪器要求通电预热至所需时间。

(3) 预热足够时间后打开天平开关,天平则自动进行灵敏度及零点调节。待稳定标志显示后,可进行正式称量。

(4) 称量时将洁净称量瓶或称量纸置于称盘上,关上侧门,轻按一下去皮键,天平将自动校对零点,然后逐渐加入待称物质,直到所需重量为止。

(5) 被称物质的重量是显示屏左下角出现“→”标志时,显示屏所显示的实际数值。

(6) 称量结束应及时除去称量瓶(纸),关上侧门,切断电源,并做好使用情况登记。

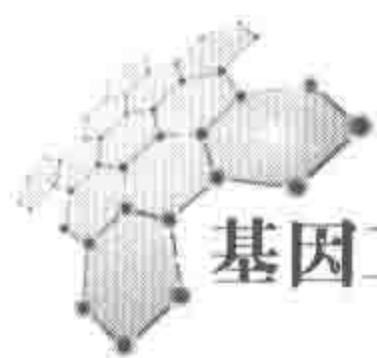
(7) 注意事项。

① 天平应放置在牢固平稳水泥台或木台上,室内要求清洁、干燥及较恒定的温度,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 电子分析天平若长时间不使用,则应定时通电预热,每周一次,每次预热2h,以确保仪器始终处于良好使用状态。

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。

⑥ 通电前应按工作电源要求检查电压是否符合要求，若电源波动太大，应经交流稳压后再送接仪器。

⑦ 电源应用良好接线，以消除外界干扰，使用搅拌器时，务必使搅拌器外壳与仪器接地端相连。

⑧ 接通仪器电源，经 10min 预热后，可进行测量工作。

第二章 核 酸

第一节 核酸的构成

核酸广泛存在于所有动物、植物细胞、微生物内、生物体内核酸常与蛋白质结合形成核蛋白。不同的核酸，其化学组成、核苷酸排列顺序等不同。根据化学组成不同，核酸可分为核糖核酸，简称 RNA 和脱氧核糖核酸，简称 DNA。DNA 是储存、复制和传递遗传信息的主要物质基础，RNA 在蛋白质合成过程中起着重要作用，其中转移核糖核酸，简称 tRNA，起着携带和转移活化氨基酸的作用；信使核糖核酸，简称 mRNA，是合成蛋白质的模板；核糖体的核糖核酸，简称 rRNA，是细胞合成蛋白质的主要场所。核酸的性质（包括化学、物理、以及光谱学和热力学）。

1. 化学

（1）酸效应。在强酸和高温，核酸完全水解为碱基，核糖或脱氧核糖和磷酸。在浓度略稀的无机酸中，最易水解的化学键被选择性的断裂，一般为连接嘌呤和核糖的糖苷键，从而产生脱嘌呤核酸。

（2）碱效应。

① DNA。当 pH 值超出生理范围（pH 值为 7~8）时，对 DNA 结构将产生更为微妙的影响。碱效应使碱基的互变异构态发生变化。这种变化影响到特定碱基间的氢键作用，结果导致 DNA 双链的解离，称为 DNA 的变性。

② RNA。pH 值较高时，同样的变性发生在 RNA 的螺旋区域中，但通常被 RNA 的碱性水解所掩盖。这是因为 RNA 存在的 2'-OH 参与到对磷酸脂键中磷酸分子的分子内攻击，从而导致 RNA 的断裂。

③ 化学变性：一些化学物质能够使 DNA 或 RNA 在中性 pH 值下变性。由堆积的疏水剪辑形成的核酸二级结构在能量上的稳定性被削弱，则核酸变性。

2. 物理

（1）黏性。DNA 的高轴比等性质使得其水溶液具有高黏性，很长的 DNA 分子又易于被机械力或超声波损伤，同时黏度下降。

（2）浮力密度。可根据 DNA 的密度对其进行纯化和分析。在高浓度分子质量的盐溶液（CsCl）中，DNA 具有与溶液大致相同的密度，将溶液高速离心，则 CsCl 趋于沉降于底部，从