



面向21世纪精品课程教材  
全国高素质应用型人才培养规划教材

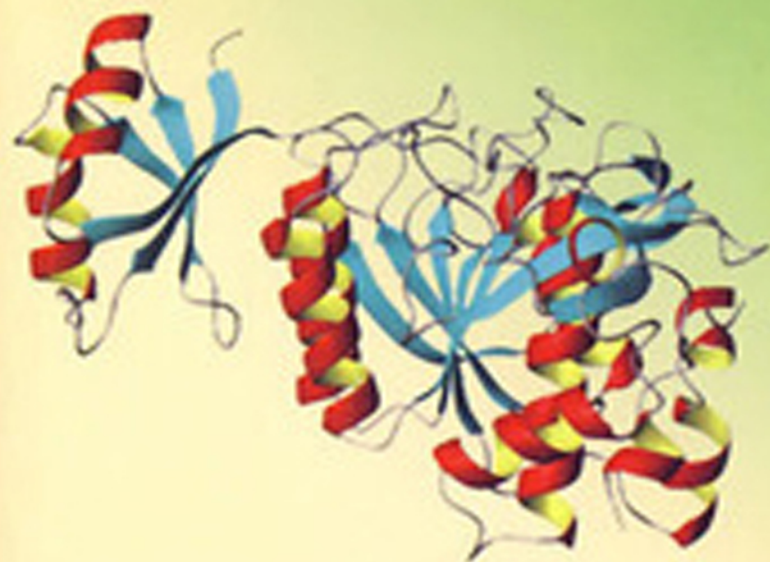
全国高等医药教育规划教材

# 生物化学与分子生物学实验技术

## —— 实验指导分册

SHENGWU HUAXUE YU FENZI SHENGWUXUE SHIYAN JISHU

主 编 陈秀芳 毛孙忠  
副主编 张 伟 张雄飞  
叶 辉 沈年汉



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS  
浙江大学出版社

面向 21 世纪精品课程教材  
全国高素质应用型人才培养规划教材  
全国高等医药教育规划教材

# 生物化学与分子生物学 实验技术

—— 实验报告分册

主 编 陈秀芳 毛孙忠

副主编 王建光 雷康福 张 伟 李春洋

编 者 (以姓氏笔画为序)

毛孙忠 王建光 叶 辉 李春洋

张 伟 张雄飞 沈年汉 陈秀芳

金丽琴 唐敬兰 雷康福



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS  
浙江大学出版社

## 图书在版编目(CIP)数据

生物化学与分子生物学实验技术.实验报告分册/陈秀芳,毛孙忠主编. —杭州:浙江大学出版社,2010.3

ISBN 978-7-308-07368-4

I .①生… II .①陈…②毛… III .①生物化学—高等学校—实验报告②分子生物学—高等学校—实验报告  
IV .①Q5-33②Q7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 017810 号

## 生物化学与分子生物学实验技术(实验指导分册、实验报告分册)

主 编 陈秀芳 毛孙忠

---

丛书策划 阮海潮(ruanhc@zju.edu.cn)

责任编辑 阮海潮

封面设计 刘依群

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 杭州大漠照排印刷有限公司

印 刷 富阳市育才印刷有限公司

开 本 787mm×1092mm 1/16

印 张 15.75

字 数 394千

版 次 2010年3月第1版 2010年3月第1次印刷

书 号 ISBN 978-7-308-07368-4

定 价 30.00元(共2册)

---

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

实验教学是高等学校教学工作的重要组成部分,对于学生创新能力和实验动手能力的培养起着不可替代的作用。通常为了提高实验课教学效果,人们大多只注重实验准备、示教和指导操作等方面的工作而忽略了实验报告书写在其间的作用。编者认为,指导学生写好实验报告也是促进学习、提高教学效果不可缺少的一个重要环节,因为一份好的实验报告不仅有助于培养学生严谨务实的学习态度和掌握基本的实验操作技能,而且还有助于培养学生分析和总结问题的能力,而这些能力的提高将为他们以后的科研实践打下坚实的基础。

以往的实验报告,学生们通常写在单页实验报告纸上。这种实验报告纸上往往只印刷了学生的专业、姓名、学号等栏目,它的好处是用多少取多少,便于实验带教老师当堂批改、及时下发。然而不利的方面有很多,譬如:① 不便于收藏,容易丢失,从而导致复习工作受阻;② 实验报告内容不够丰富,格式缺乏规范和统一;③ 不利于培养学生的创新能力和思考能力;④ 此环节的学习基本属于被动学习等等。近年来,编者在部分授课班级开展了将单页实验报告纸改为实验报告册的试点工作,发现此举能大大克服过去使用单页实验报告纸的诸多弊端,学生无论是在期末的实验操作考核还是实验理论测试中均取得了更好的成绩。鉴于以上的试点效果,我们萌生了推广实验报告册的想法。同时据编者了解,目前市面上有关生物化学实验方面的教材种类繁多,而生物化学实验报告册却很少。

本实验报告分册与实验指导分册同属于《生物化学与分子生物学实验》(主编:陈秀芳、毛孙忠)一书。

本书的出版得到了温州医学院有关领导的大力支持,在整个编写过程中始终得到金丽琴教授的关心和精心指导,金教授对本书的编写大纲、初稿和终稿都进行了认真的审阅,并提出了宝贵的修改意见;同时,陈秀芳老师、毛孙忠老师、叶辉老师、张伟老师、张雄飞老师、沈年汉老师、王建光老师、唐敬兰老师、雷康福老师、李春洋老师为本教材的策划、编写大纲的制订、审稿和编写工作做出了卓有成效的贡献;在出版过程中,浙江大学出版社给予了大力支持,特别是阮海潮副编审在本书的编辑审稿等方面做了大量工作,在此一并表示衷心的感谢。

由于编者水平有限、时间仓促,本分册难免存在不妥和疏漏之处,敬请同行专家和使用本分册的师生批评指正。

叶 辉

2010年2月于温州医学院

# 目 录

第一章 生物化学实验报告.....	1
实验一 血清 $\gamma$ -球蛋白的分离纯化与鉴定 / 1	
实验二 蛋白质含量测定 / 3	
I . 双缩脲法 / 3	
II . Folin-酚试剂法(Lowry 法) / 6	
III . 考马斯亮蓝 G-250 法 / 9	
IV . BCA 法 / 12	
V . 紫外分光光度法 / 15	
实验三 血清蛋白质醋酸纤维素薄膜电泳 / 18	
实验四 血清蛋白质聚丙烯酰胺凝胶电泳 / 20	
实验五 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定蛋白质相对分子质量 / 22	
实验六 等电聚焦电泳测定蛋白质等电点 / 25	
实验七 氨基酸的薄层层析 / 28	
实验八 蛋白质的脱盐(凝胶层析法) / 30	
实验九 氨基酸的双向纸层析 / 32	
实验十 血清总胆固醇的测定(硫磷铁法) / 34	
实验十一 血清尿素的测定(二乙酰-脲法) / 36	
实验十二 血清高密度脂蛋白-胆固醇含量的测定(酶法) / 38	
实验十三 血清甘油三酯的测定(乙酰丙酮显色法) / 40	
实验十四 酮体的生成与作用的定性测定 / 42	
实验十五 维生素 C 的提取及定量测定(磷钼酸法) / 44	
实验十六 血清乳酸脱氢酶总活性的测定(比色法) / 47	
实验十七 血清葡萄糖含量测定 / 50	
I . 葡萄糖氧化酶法 / 50	
II . 邻甲苯胺法 / 53	
实验十八 丙二酸对琥珀酸脱氢酶的竞争性抑制 / 55	
实验十九 碱性磷酸酶的 $K_m$ 测定及抑制剂类型的判定(双倒数作图法) / 57	
I . 碱性磷酸酶的 $K_m$ 测定 / 57	

II. 抑制剂类型的判定	/ 60
实验二十 酶浓度、pH、温度及抑制剂对酶促反应的影响	/ 63
I. 酶浓度对酶促反应的影响	/ 63
II. pH 对酶促反应的影响	/ 66
III. 温度对酶促反应的影响	/ 69
第二章 分子生物学实验报告 .....	72
实验一 组织细胞中基因组 DNA 的提取	/ 72
实验二 琼脂糖凝胶电泳分离 DNA 片段(水平潜水式)	/ 74
实验三 质粒 DNA 的提取(碱裂解法)	/ 76
实验四 动物组织细胞总 RNA 的提取和变性凝胶电泳鉴定	/ 78
实验五 紫外分光光度法测定核酸的浓度及纯度	/ 80
实验六 聚合酶链反应	/ 82
实验七 逆转录聚合酶链反应	/ 84
实验八 Southern 印迹杂交	/ 86
实验九 Western 印迹杂交	/ 88

---

---

## 第一章 生物化学实验报告

### 实验一 血清 $\gamma$ -球蛋白的分离纯化与鉴定

实验日期\_\_\_\_\_

一、实验目的：

二、实验原理：

三、实验步骤：

四、实验结果(实验现象或数据的记录及处理):

实验现象记录:

五、实验结论:

六、讨论(成功的经验或失败的反思):

七、你对本实验的建议(关于实验方法、设计及步骤等方面的改进建议):

八、教师评价:



## 实验二 蛋白质含量测定

实验日期\_\_\_\_\_

### I . 双缩脲法

一、实验目的：

二、实验原理：

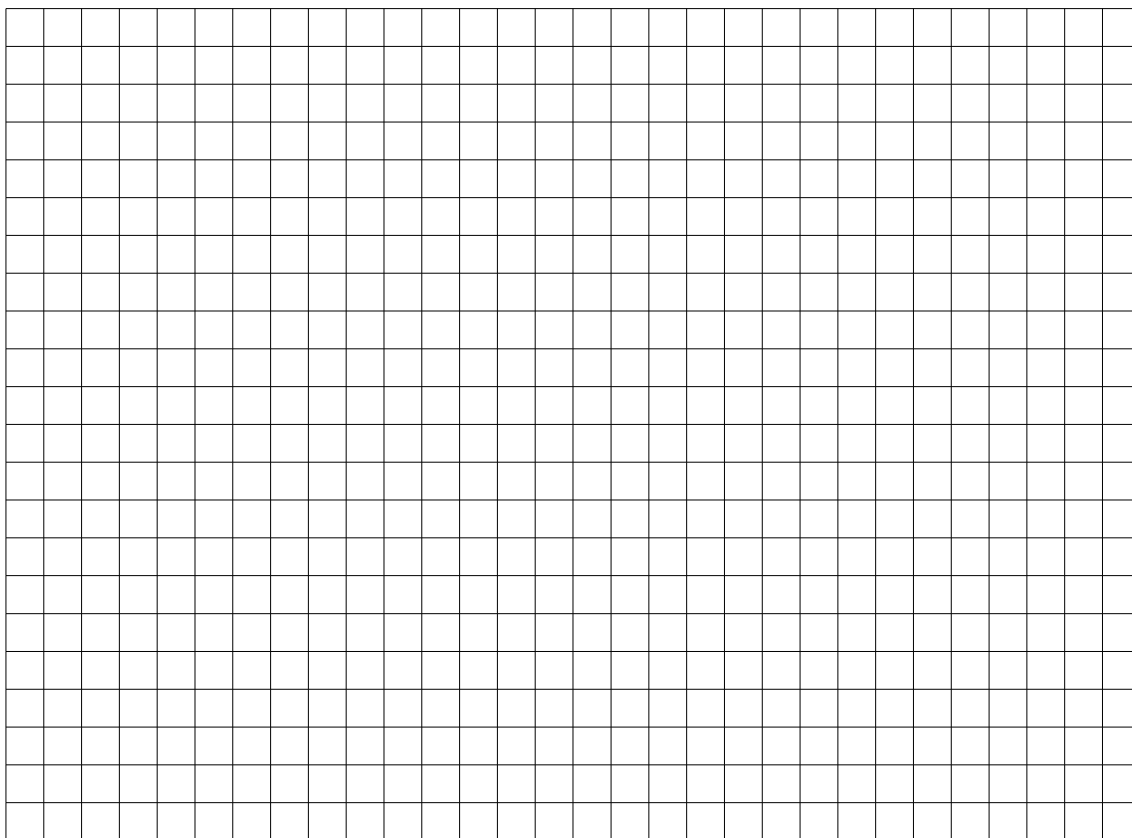
三、实验步骤：

四、实验结果(实验现象或数据的记录及处理)：

1. 蛋白质含量标准曲线的绘制：

试管编号	0	1	2	3	4	5	6
蛋白质含量(mg)	0	0.6	1.2	1.8	2.4	3.0	3.6
$A_{540}$	0						

以蛋白质含量(mg)为横坐标,吸光度  $A_{540}$  为纵坐标,绘制标准曲线。



2. 样品蛋白质含量测定:

根据待测样品吸光度,对照标准曲线求得蛋白质含量,记录下表中:

	对照管	测定管
$A_{540}$	0	
蛋白质含量(mg)	0	

五、实验结论:

六、讨论(成功的经验或失败的反思):

七、你对本实验的建议(关于实验方法、设计及步骤等方面的改进建议):

八、教师评价:

## II . Folin-酚试剂法(Lowry 法)

实验日期\_\_\_\_\_

一、实验目的：

二、实验原理：

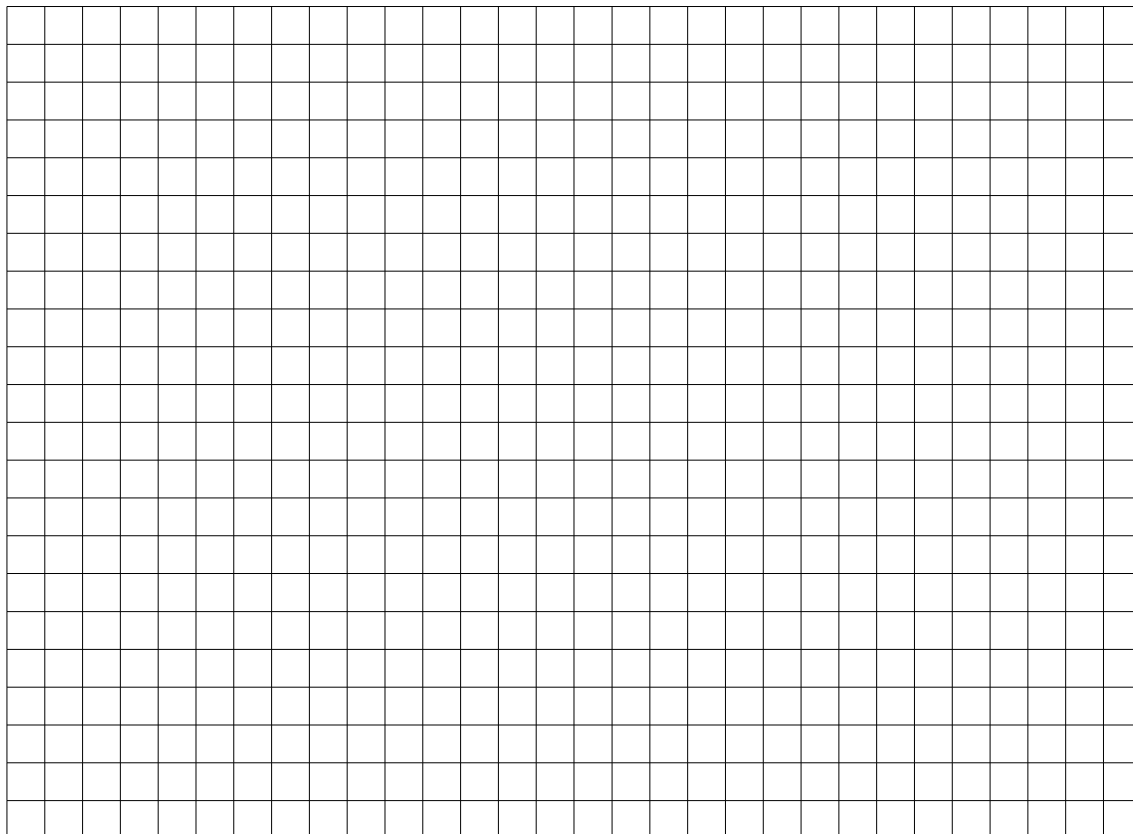
三、实验步骤：

四、实验结果(实验现象或数据的记录及处理)：

1. 蛋白质含量标准曲线的绘制：

试管编号	0	1	2	3	4	5
蛋白质含量(mg)	0	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25
$A_{500}$	0					

以蛋白质含量(mg)为横坐标,吸光度  $A_{500}$  为纵坐标,绘制标准曲线。



2. 样品蛋白质含量测定:

根据待测样品吸光度,对照标准曲线求得蛋白质含量,记录下表中:

	对照管	测定管
$A_{500}$	0	
蛋白质含量(mg)	0	

五、实验结论:

六、讨论(成功的经验或失败的反思):

七、你对本实验的建议(关于实验方法、设计及步骤等方面的改进建议):

八、教师评价:

### III . 考马斯亮蓝 G-250 法

实验日期\_\_\_\_\_

一、实验目的：

二、实验原理：

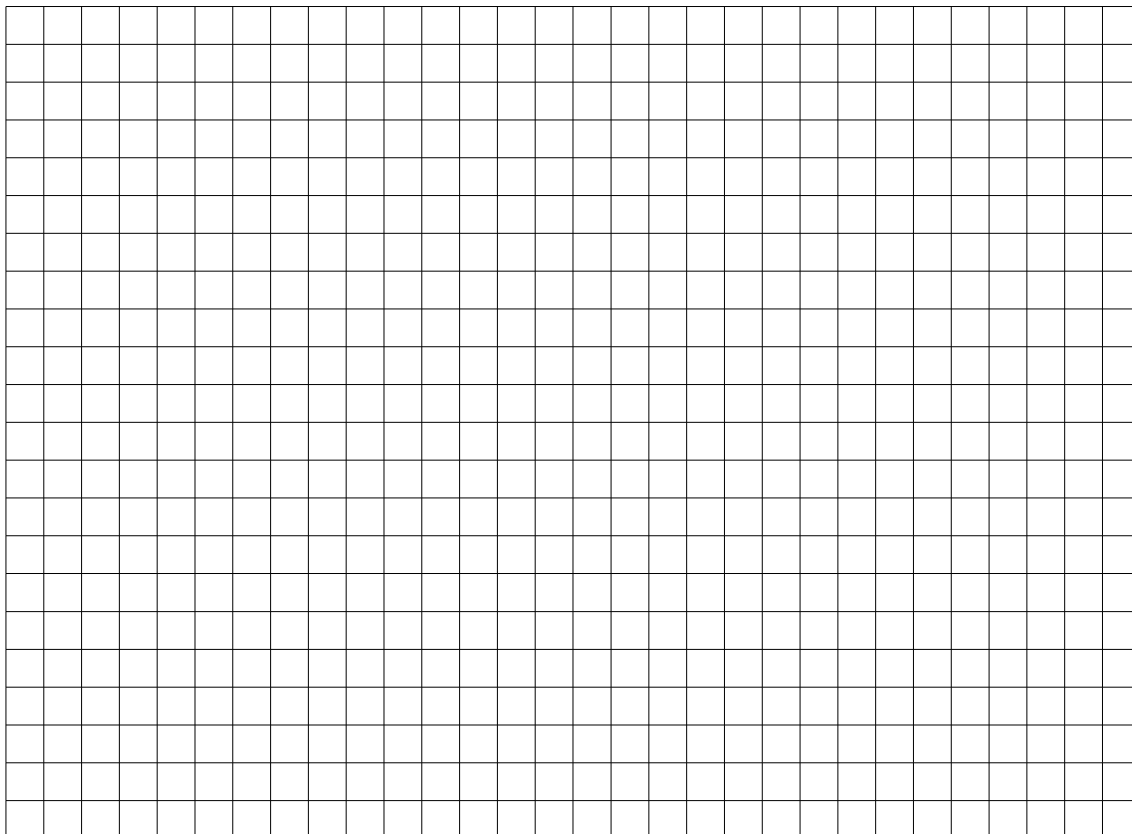
三、实验步骤：

四、实验结果(实验现象或数据的记录及处理)：

1. 蛋白质含量标准曲线的绘制：

试管编号	0	1	2	3	4	5
蛋白质含量(mg)	0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1
$A_{595}$	0					

以牛血清白蛋白含量(mg)为横坐标,吸光度  $A_{595}$  为纵坐标,绘制标准曲线。



2. 样品蛋白质含量测定:

根据待测样品吸光度,对照标准曲线求得蛋白质含量,记录下表中:

	对照管	测定管
$A_{595}$	0	
蛋白质含量(mg)	0	

五、实验结论:



六、讨论(成功的经验或失败的反思):

七、你对本实验的建议(关于实验方法、设计及步骤等方面的改进建议):

八、教师评价: