

高等医学院校基础医学实验教学改革系列教材

生物学实验教程

主编 ◎ 罗桐秀



北京大学医学出版社

生物学实验教程

主编 罗桐秀

副主编 刘佳 黄秋霞 衡建福

编者(以姓名汉语拼音为序)

陈珂珂 龚琳 贺气志 衡建福 黄秋霞

刘佳 刘华友 刘一舟 罗琼 罗桐秀

罗映红 唐亮 曾琛 曾杰 张敬敬

赵娟 郑建军 周鹏

秘书 衡建福

SHENGWUXUE SHIYAN JIAOCHENG

图书在版编目 (CIP) 数据

生物学实验教程 / 罗桐秀主编. —北京: 北京大学医学出版社, 2014.8

高等医学院校基础医学实验教学系列教材

ISBN 978-7-5659-0903-0

I. ①生… II. ①罗… III. ①生物学—实验—高等学校—教材 IV. ①Q-33

中国版本图书馆CIP数据核字 (2014) 第161210号

生物学实验教程

主 编：罗桐秀

出版发行：北京大学医学出版社

地 址：(100191)北京市海淀区学院路38号北京大学医学部院内

电 话：发行部 010-82802230；图书邮购 010-82802495

网 址：<http://www.pumpress.com.cn>

E-mail：booksale@bjmu.edu.cn

印 刷：北京画中画印刷有限公司

经 销：新华书店

责任编辑：张彩虹 责任校对：张雨 责任印制：张京生

开 本：787mm×1092 mm 1/16 印张：19.25 字数：487千字

版 次：2014年8月第1版 2014年8月第1次印刷

书 号：ISBN 978-7-5659-0903-0

定 价：39.00 元

版权所有，违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

高等医学院校基础医学实验教学改革系列教材

编审委员会

主任 何彬生

副主任 卢捷湘 何建军 罗怀青 周启良

委员（以姓名汉语拼音为序）

何彬生 何建军 何月光 黄春霞 刘佳

刘万胜 卢捷湘 罗怀青 罗桐秀 秦晓群

孙继虎 吴长初 谢应桂 袁爱华 曾明

张子敬 周启良 祝继明 朱传炳

总策划 罗怀青

序

随着我国医学教育改革的不断深入，医学教育的目标已向培养高素质、强能力、具有创新精神的综合型人才的目标转变。医学实验教学是医学人才培养的重要环节，国内各高校对实验教学内容、教学方法和手段、管理体制等进行了大量的改革和探索。教育部在全国开展医学院校专业认证评估，把实验教学改革再次推向新的高度。

在医学教育认证标准中（WFME 和 IIME），课程整合是其中一项重要的观察指标，实验课程融合和教学改革是其中的重要部分。为加强学生动手能力培养，强化学生创新思维训练，有效开展实验课程的融合，促进医学人才质量的提高，适应医学专业认证评估的需要，长沙医学院开展了基础医学实验教学改革的探索，并组织编写了本系列教材。

本系列教材的编写，综合了“本科医学教育国际标准”和“全球医学教育最低基本要求”两个国际医学教育标准，更加注重学生能力培养的个性化教学需求，注重创新思维和创新精神的培养，注重基础与基础、基础与临床的知识融合及知识运用能力的培养。

首先，对基础医学课程实验教学内容进行优化整合，形成形态学实验、机能学实验、生物化学与分子生物学实验、病原生物免疫学实验、化学实验等实验教学。

其次，实验项目按照“基础性实验”“综合性实验”“设计创新性实验”三大模块编写，精简了基础性实验和重复的实验项目，增加了“三性”实验项目，联系后续课程内容及临床，重点突出知识点的横向与纵向联系。

同时，融合最新的科研成果，将其转化为不同课程之间的综合性、创新性实验项目，有助于全面提升医学专业人才培养质量。

本次出版的基础医学实验教学改革系列教材是长沙医学院教育教学改革成果的重要组成部分，我们期盼着这些成果能够成为医学人才培养质量迈上新台阶的标志。

欢迎兄弟院校专家学者雅正指导！

何林生
2018年6月15日

前　言

根据生物技术专业和医学各专业人才培养方案，我们组织编写了《生物学实验教程》。编写本实验教材的宗旨：一是本着创新、实用的原则，深化教学改革，增加综合性、创新性实验内容；二是规范生物学实验教学；三是重在培养学生的思维能力、动手能力和独立解决问题的能力；四是为学生做毕业论文和进行课外研究提供参考资料。

本实验教材包含了植物学、动物学、微生物学、细胞生物学、生物化学、遗传学、分子生物学、发酵工程课程的实验教学内容。在编写时，考虑了生物学实验的系统性，按基础性实验、综合性实验、设计创新性实验顺序编写，每门课程的实验内容均符合教学大纲要求。本实验教材主要供生物技术、临床医学、护理学、医学检验、口腔医学和预防医学等专业教师和学生实验教学使用；还可供学生做毕业论文和课外研究使用。

本实验教材是在长沙医学院领导、教务处领导和各系领导的大力支持下，由相关专业老师参与编写，并通过集体讨论、修改而成的。在此表示衷心的感谢！

由于时间仓促、水平有限，书中难免有错误和不妥之处，请老师和同学们在使用过程中发现问题，及时提出修改意见，以便再版时进一步完善。

罗桐秀

2014年6月

目 录

第一篇 基础知识

一、学生实验总则.....	2
二、生物学实验绘图要求.....	2
三、溶液配制.....	3

第二篇 基础性实验

第一章 植物学.....	13
实验一 光学显微镜的构造、使用和植物临时装片的制作.....	13
实验二 植物细胞.....	17
实验三 植物组织.....	19
实验四 根的初生结构、次生结构及侧根的发生.....	21
实验五 植物茎的解剖结构.....	24
实验六 叶的解剖结构.....	27
实验七 花的构造.....	30
实验八 花药和胚囊的解剖结构.....	32
实验九 藻类观察.....	33
实验十 苔藓植物、蕨类植物的观察.....	35
第二章 动物学.....	39
实验一 草履虫和变形虫等水体原生动物的观察.....	39
实验二 多细胞动物的胚胎发育和基本组织.....	40
实验三 蛔虫的解剖与观察.....	43
实验四 蝲虾的解剖与观察.....	45
实验五 鲫鱼的解剖与观察.....	47

实验六	家鸽的解剖与观察	49
实验七	蟾蜍的解剖与观察	51
实验八	家兔的解剖与观察	53
第三章	微生物学	59
实验一	微生物学实验室常用器皿的认识和使用	59
实验二	细菌形态的观察	64
实验三	细菌单染色法及口腔微生物的观察	65
实验四	细菌的革兰染色	67
实验五	常用培养基的制备	68
实验六	灭菌与除菌	71
第四章	细胞生物学	79
实验一	动物细胞基本形态的观察	79
实验二	细胞膜的渗透性	81
实验三	动物细胞有丝分裂的观察	83
实验四	动物细胞减数分裂的观察	85
实验五	细胞计数	87
实验六	线粒体的制备与观察	89
实验七	细胞器的制备与观察	91
实验八	细胞内多糖和过氧化物酶的定位	93
实验九	植物染色体标本的制作与观察	94
实验十	免疫胶体金技术	96
实验十一	细胞的吞噬活动	98
第五章	生物化学	101
实验一	生物化学实验基本操作	101
实验二	糖类的还原作用	105
实验三	还原糖和总糖的测定	107
实验四	蛋白质的呈色反应、沉淀反应及等电点的测定	109
实验五	考马斯亮蓝 G-250 测定蛋白质含量	111
实验六	酶的特性验证	113
实验七	紫外分光光度法测定水果中维生素 C 的含量	118
实验八	氨基酸的分离鉴定——纸层析	120
实验九	葡萄糖氧化酶法测定血糖浓度	122

实验十 氧化酶法测定血清总胆固醇.....	124
实验十一 血清谷丙转氨酶活力测定.....	126
第六章 遗传学.....	129
实验一 人类非显带染色体核型分析.....	129
实验二 人类 G 显带染色体核型分析.....	131
第七章 分子生物学.....	137
实验一 碱裂解法提取质粒 DNA	137
实验二 DNA 的琼脂糖凝胶电泳检测	138
实验三 组织样品 RNA 的抽提及检测	141
实验四 聚合酶链反应扩增目的基因	143
实验五 PCR 产物的纯化回收	146
实验六 PCR 产物与 T 载体连接	147
实验七 外源 DNA 与质粒载体连接	149
实验八 SDS-PAGE 电泳	151
第八章 发酵工程.....	155
实验一 土壤中产酸醋酸菌的分离筛选.....	155
实验二 细菌生长曲线的测定.....	156
实验三 醋酸菌的紫外线诱变选育.....	158
实验四 亚硫酸盐氧化法测定体积溶氧系数.....	160
实验五 红葡萄酒的酿造	162
实验六 5L 机械搅拌通风发酵罐结构的认识	163
实验七 5L 机械搅拌通风发酵罐的操作	166

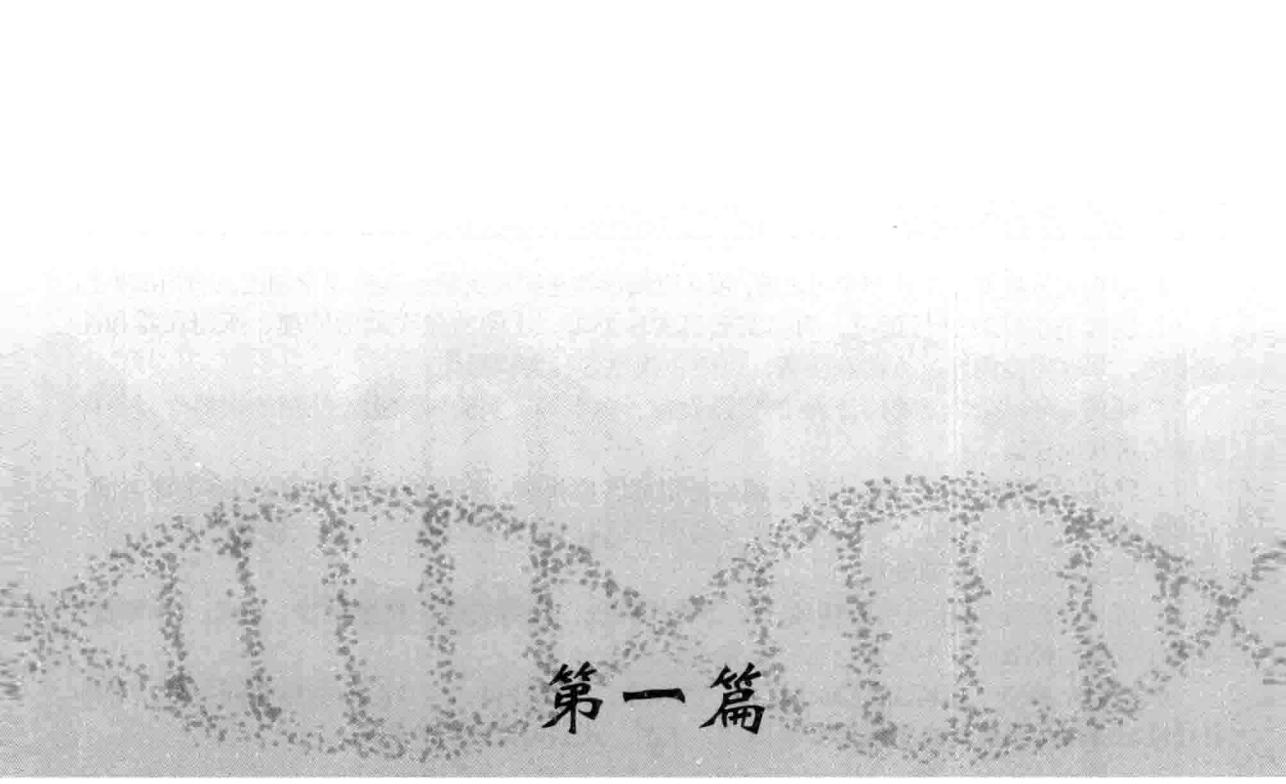
第三篇 综合性实验

第一章 植物学.....	171
实验一 被子植物分类观察	171
实验二 植物标本的制作	173
第二章 动物学.....	177
实验一 牛蛙骨骼标本的制作	177
实验二 昆虫标本的采集、制作及保存方法	178

第三章 微生物学	183
实验一 微生物数量的测定	183
实验二 细菌的生理生化反应	186
实验三 微生物的分离、纯化培养及无菌操作技术	188
实验四 微生物菌落形态观察与判断	192
实验五 乙醇发酵及糯米甜酒的酿制	195
实验六 乳酸发酵与乳酸菌饮料	197
第四章 细胞生物学	201
实验一 动物细胞培养	201
第五章 生物化学	205
实验一 细菌基因组 DNA 提取与鉴定	205
实验二 血清 IgG 的分离与鉴定	207
第六章 遗传学	211
实验一 动、植物细胞减数分裂玻片标本制作及观察	211
实验二 果蝇唾液腺染色体的制备和观察	217
实验三 人类 X 染色质的检测	220
实验四 人类指纹花样的遗传分析	223
实验五 果蝇性别鉴定性状观察与饲养方法	228
实验六 果蝇综合杂交	230
实验七 植物 DNA 的提取及测定	233
实验八 哺乳类骨髓细胞染色体标本制片与观察	235
实验九 人体外周血淋巴细胞培养和染色体标本的制备	237
实验十 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核制片技术	240
第七章 分子生物学	245
实验一 质粒 DNA 及 λDNA 的酶切、连接、转化及重组子的筛选鉴定	245
实验二 反转录 - 聚合酶链反应	249
实验三 蛋白质免疫印迹分析	252
第八章 发酵工程	255
实验一 地衣芽孢杆菌的液体发酵	255
实验二 红曲霉固态发酵及红曲色素的分离	257

第四篇 设计创新性实验

第一章 植物学.....	263
实验一 植物向性运动实验设计	263
第二章 动物学.....	265
实验一 动物再生试验设计	265
第三章 微生物学.....	267
实验一 不同来源自来水中菌落总数和大肠菌群的测定	267
实验二 发酵食品中的微生物检测	269
第四章 细胞生物学.....	273
实验一 某药物对肿瘤细胞生长增殖的影响	273
第五章 生物化学.....	275
实验一 碱性磷酸酶的分离、性质鉴定及活性测定	275
第六章 遗传学.....	277
实验一 番木瓜 DNA 提取与性别分子鉴定	277
第七章 分子生物学.....	281
实验一 聚合酶链反应引物的电子设计	281
第八章 发酵工程.....	291
实验一 微生物发酵条件的优化	291
主要参考文献	293



第一篇

基 础 知 识

一、学生实验总则

1. 学生进入实验室工作与学习之前，须认真阅读本总则及实验室其他规章制度，并严格遵守。
2. 实验前应认真进行预习，明确实验目的和要求，了解所做实验的原理、所用仪器和注意事项，掌握实验内容、方法和步骤，以便正确地进行实验操作。
3. 任何人不得私自挪用实验室的仪器设备、标本等。实验时除指定使用的仪器外，不得随意动用其他仪器。
4. 学生在实验时必须按编定的组别和指定的席位就座，不得任意调动。应遵守上课时间，不得无故迟到、早退、缺席。因故不能上实验课者，应向指导教师请假，所缺实验课应及时补上。无故不参加实验者作旷课处理。
5. 进入实验室或其他实验场地，必须着实验服，保持安静，严禁喧哗、吸烟、吃零食、随地吐痰和乱扔纸屑，不准做与实验无关的事。
6. 实验前检查、清理好所需的仪器、用具等。如有缺损，应及时向指导教师报告，不得自己任意挪用，不准擅自将任何实验器材、试剂、药品等带出实验室。
7. 实验时，服从教师指导，按规定和步骤进行实验，认真操作、细心观察，真实地记录各种实验数据，不允许抄袭他人数据，不得擅自离开操作岗位。
8. 注意安全与防护，严格遵守操作规程。爱护仪器设备，节约水、电、试剂和药品等。实验结束后，废液、废渣、废气、标本及含病菌的其他材料要按指定要求处置，不得随意丢弃。
9. 在实验过程中如仪器设备发生故障，应立即报告指导教师及时处理。凡违反操作规程或不听从指导而造成仪器设备损坏等事故者，必须写出书面检查，并按学校有关规定处理。
10. 实验结束后，学生应负责将仪器整理还原，桌面、凳子收拾整齐。由值日学生打扫卫生并协助教师收拾整理试剂及仪器，经指导教师审核测量数据和仪器还原情况并同意后方可离开实验室。
11. 应在指导教师规定时间内上交实验报告。
12. 开放性实验一般安排在非实验课时间，学生可以结合自己的兴趣爱好，选择合适的时段进行开放性实验操作。
13. 对课外开放实验所需的仪器设备，须经指导教师签字同意后办理借用手续，实验结束后及时归还。归还时，经实验室人员认真检查后，方可离开。如发现损坏、遗失，按学校有关规定处理。消耗材料的领用按实验室规定办理手续。

二、生物学实验绘图要求

使用显微镜的实验要求按照显微镜下观察到的实际形态绘图。生物学实验绘图要求如下：

1. 在仔细观察的基础上，选择典型结构进行描绘，要求真实、准确（注意各部结构的比例关系），不得随意绘图、想象绘图。
2. 用铅笔绘图，线条要明确清晰，图的深浅、明暗一律以点的疏密来表示，点要圆而一致，不得涂暗影或进行其他美术加工。
3. 各部结构名称要在一侧（右侧）引直线注明。各引线要平行，不宜交叉。各引线终点对齐，注字对齐。

4. 每幅图的大小应与实验报告纸大小相适应；每幅图的位置在实验报告上必须安排得当，并注意纸面的整洁、美观。

5. 绘制的显微镜下图应注明放大倍数。

三、溶液配制

(一) 植物学实验溶液配制

1. I₂-KI 溶液 称取碘化钾 3g 溶解于 100ml 蒸馏水中，待全部溶解后，再加 1g 碘，振荡溶解后，保存在棕色玻璃瓶中。

2. 苏丹Ⅲ溶液 称取苏丹Ⅲ干粉 0.1g，溶解于 10ml 95% 乙醇中，过滤后加入 10ml 甘油。

3. 间苯三酚溶液 称取间苯三酚 5g 溶解于 100ml 95% 乙醇中（溶液如呈黄褐色即失效）。

4. 碘-氯化锌溶液 称取碘化钾 1g 溶解于 20ml 蒸馏水，再加入 0.5g 碘振荡溶解，标为 A 液。称取氯化锌 20g 加入蒸馏水 8.5ml，加热溶解，标为 B 液。待 B 液冷却后，将 A 液逐滴加入 B 液中，待出现碘的沉淀物且振荡不消失后即可。

(二) 动物学实验溶液配制

1% 乙酸甲基绿溶液剂 称取乙酸甲基绿 1g 溶解于 100ml 蒸馏水中，振荡溶解后，保存在玻璃瓶中。

(三) 微生物学实验溶液配制

1. 牛肉膏蛋白胨培养基（用于细菌培养） 牛肉膏 3g，蛋白胨 10g，NaCl 5g，水 1000ml，pH 7.4~7.6。固体培养基加入 1.5% 琼脂。

2. 高氏 1 号培养基（用于放线菌培养） 可溶性淀粉 20g，KNO₃ 1g，NaCl 0.5g，K₂HPO₄·3H₂O 0.5g，MgSO₄·7H₂O 0.5g，FeSO₄·7H₂O 0.01g，水 1000ml，pH 7.4~7.6。配制时应注意，可溶性淀粉要先用冷水调匀后再加入以上培养基中。固体培养基加入 1.5% 琼脂。

3. 马丁（Martin）培养基（用于从土壤中分离真菌） K₂HPO₄ 1g，MgSO₄·7H₂O 0.5g，蛋白胨 5g，葡萄糖 10g，1/3000 孟加拉红水溶液 100ml，水 900ml，自然 pH，121℃ 湿热灭菌 30min，待培养基溶化后冷却至 55~60℃ 时，加入链霉素（链霉素含量为 30 μg/ml）。固体培养基加入 1.5% 琼脂。

4. 乳糖蛋白胨培养液（用于多管发酵法检测水体中大肠菌群） 蛋白胨 10g，牛肉膏 3g，乳糖 5g，NaCl 5g，蒸馏水 1000ml，1.6% 溴甲酚紫乙醇溶液 1ml，调 pH 至 7.2，分装于试管（10ml/管），并倒置放入杜氏小管，115℃ 湿热灭菌 20min。

5. 糖发酵培养基（用于细菌糖发酵试验） 蛋白胨 0.2g，NaCl 0.5g，K₂HPO₄ 0.02g，水 100ml，溴麝香草酚蓝（1% 水溶液）0.3ml，糖类 1g。分别称取蛋白胨和 NaCl，溶解于热水中，调节 pH 至 7.4，再加入溴麝香草酚蓝（先用少量 95% 乙醇溶解后，再加水配成 1% 水溶液），加入糖类，分装于试管中，装量 4~5cm 高，并倒置放入杜氏小管（管口向下，管内充满培养液），115℃ 湿热灭菌 20min。灭菌时应注意适当延长煮沸时间，尽量将冷空气排尽以使杜氏小管内不残存气泡。常用的糖类有葡萄糖、蔗糖、甘露糖、麦芽糖、乳糖、半乳糖等（后两种糖的用量常加大为 1.5%）。

6. 蛋白胨水培养基（用于吲哚试验） 蛋白胨 10g，NaCl 5g，水 1000ml，调 pH 至 7.2~7.4，

121℃湿热灭菌 20 min。

7. 乙醇发酵培养基（用于乙醇发酵） 蔗糖 10 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g, NH_4NO_3 0.5 g, 20% 豆芽汁 2 ml, KH_2PO_4 0.5 g, 水 100 ml, 自然 pH。

8. BCG 牛乳培养基（用于乳酸发酵） A 溶液：脱脂乳粉 100 g, 水 500 ml, 加入 1.6% 溴甲酚绿 (B.C.G) 乙醇溶液 1 ml, 80℃灭菌 20 min。B 溶液：酵母膏 10 g, 水 500 ml, 琼脂 20 g, pH 6.8, 121℃湿热灭菌 20 min。以无菌操作趁热将 A、B 溶液混合均匀后倒平板。

9. 乳酸菌培养基（用于乳酸发酵） 牛肉膏 5 g, 酵母膏 5 g, 蛋白胨 10 g, 葡萄糖 10 g, 乳糖 5 g, $NaCl$ 5 g, 水 1000 ml, pH 6.8, 121℃湿热灭菌 20 min。

10. 脱脂乳试管 直接选用脱脂乳液或按脱脂乳粉与 5% 蔗糖水为 1:10 的比例配制，装量以试管 1/3 为宜, 115℃灭菌 15 min。

(四) 细胞生物学实验溶液配制

1. Ringer 溶液

氯化钠 0.85 g

氯化钾 0.25 g

氯化钙 0.03 g

蒸馏水 100 ml

2. 1/5000 詹姆斯绿 B 溶液

1% 詹姆斯绿 B 溶液（原液）：称取 50 mg 詹姆斯绿 B 于 5 ml Ringer 液中，稍加微热 (30~40℃)，使之溶解，用滤纸过滤后，即为 1% 原液。实验前用 Ringer 液稀释 50 倍，即为 1/5000 使用浓度。

3. 高碘酸溶液（配制 50 ml） 取一小烧杯，首先加入 95% 乙醇 35 ml，再加入蒸馏水 10 ml，然后吸取 5 ml 1/5 mol/L 醋酸钠溶液 (2.72 g 醋酸钠溶解于 100 ml H_2O)，最后加入高碘酸 ($HIO_4 \cdot 2H_2O$) 0.4 g，用玻璃棒搅拌均匀。

4. Schiff 试剂（配制 100 ml） 称取 0.5 g 碱性品红加入 100 ml 煮沸的蒸馏水中（用锥形瓶），边加边搅拌，持续煮 5 min（勿使之沸腾），使之充分溶解。然后待之冷却至 50℃时，再用滤纸过滤至锥形瓶中，滤液中加入 10 ml 1 mol/L HCl，冷却至 25℃时，再加入 0.5 g $Na_2S_2O_5$ （偏重亚硫酸钠），塞紧瓶塞，充分振荡后，用黑纸包裹好锥形瓶，放置到室温暗处静置至少 24 h（有时需 2~3 天），使其颜色退至淡黄色，然后加入 0.5 g 活性炭，用力振荡 1 min，最后用粗滤纸过滤于棕色瓶内，封严瓶塞，外包黑纸。如果试剂配制正确，滤液应为无色，也无沉淀。配制好的溶液置于 4℃冰箱中保存，备用。如果滤液中有白色沉淀，则不能再使用。如果滤液颜色变红，可加入少许偏重亚硫酸钠或钾，使之再转变为无色时，仍可再用。

5. 亚硫酸水溶液 该溶液需在使用前配制，避免 SO_2 逸出而失效。配制方法如下：在一个烧杯中首先加入 200 ml 蒸馏水，然后加 10 ml 10% 偏重亚硫酸钠（或偏重亚硫酸钾）水溶液和 10 ml 1 mol/L HCl，用玻璃棒搅拌均匀。

6. 联苯胺溶液（配制 100 ml） 先配制 100 ml 0.85% $NaCl$ 溶液，然后向 $NaCl$ 溶液内加入联苯胺至饱和为止。临用前按体积比加入 20% H_2O_2 。

7. 0.1% 铬酸铵溶液（配制 100 ml） 先配制 100 ml 0.85% $NaCl$ 溶液，然后称取 0.1 g 铬酸铵溶解于 $NaCl$ 溶液中，混匀。

8. 改良苯酚品红染色液

母液 A：称取 3g 碱性品红于烧杯中，加入 100ml 70% 乙醇，混匀。此液可放置 4℃ 冰箱中长期保存。

母液 B：取 A 液 10ml，加入 90ml 5% 苯酚水溶液。此液 2 周内可以使用。

然后取 B 液 45ml 于烧杯中，再分别加入冰醋酸 6ml 和 37% 甲醛 6ml，混匀。此即为苯酚品红染色液。

再取苯酚品红染色液 10ml，分别加入山梨醇 1.8g 和 45% 乙酸 90ml，混匀。此液为改良苯酚品红染色液。此液放置 2 周后，染色效果较好。

9. Carnoy 固定液 甲醇 - 冰醋酸以体积比 3 : 1 混合。

10. 50% 硝酸银溶液 5g 硝酸银溶解在 10ml 蒸馏水中（最好在染色前一天配制）。

11. 明胶显影液 称取 2g 明胶粉末，溶解在 99ml 蒸馏水中，加 1ml 甲酸。

（五）生物化学实验溶液配制

1. 重铬酸钾洗液 称取重铬酸钾 20g 溶解于 20ml 蒸馏水中，加热至沸。冷却后再将 200ml 浓硫酸缓慢加入，边加边搅拌。注意：此时可产生高热。为防止容器破裂，应选用耐酸搪瓷缸或耐高温的玻璃器皿，切忌用量筒及试剂瓶等配制。为防止洗液吸收空气中的水分而被稀释变质，洗液应贮存于带盖的容器中。当洗液清洁效力降低时，再加入少量重铬酸钾及浓硫酸就可继续使用。

2. 斐林试剂

甲液（硫酸铜溶液）：称取 34.6g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 溶解于 500ml 蒸馏水中，待用。

乙液（碱性酒石酸盐溶液）：称取 125g 氢氧化钠和 137g 酒石酸钾钠溶解于 500ml 蒸馏水中。

甲、乙液分开保存，用前将甲、乙液按等量体积混合即可。

3. Benedict 试剂 称取柠檬酸钠 173g 及碳酸钠 100g，加入 600ml 蒸馏水中，加热使其溶解，冷却，稀释至 850ml。

另称取 17.3g 硫酸铜溶解于 100ml 热蒸馏水中，冷却，稀释至 150ml。

最后将硫酸铜溶液缓慢加入柠檬酸钠 - 碳酸钠溶液中，边加边搅拌，混匀。如有沉淀，应过滤。配制的溶液贮存于试剂瓶中，可长期使用。

4. 3, 5-二硝基水杨酸 (DNS) 试剂 称取 6.5g DNS 溶解于少量热蒸馏水中，溶解后移入 1000ml 容量瓶中，加入 2mol/L 氢氧化钠溶液 325ml，再加入 45g 丙三醇，混匀，冷却后定容至 1000ml。

5. KI-I₂ 溶液 称取 5g 碘和 10g 碘化钾，溶解于 100ml 蒸馏水中。

6. 酚酞指示剂 称取 0.1g 酚酞，溶解于 250ml 70% 乙醇中。

7. 饱和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶液 称取硫酸铵 220g，研磨成粉末状，加入蒸馏水 250ml，加热至大部分硫酸铵固体溶解，趁热过滤，放置于室温平衡 1~2 天，有固体析出时即达到 100% 饱和度，取上层液体使用。

8. 0.5% 酪蛋白醋酸钠溶液 称取纯酪蛋白 0.25g，置于 50ml 容量瓶内，准确地加蒸馏水 20ml 及 1mol/L NaOH 5ml，摇匀，使酪蛋白溶解，然后准确地加 1mol/L 醋酸溶液 5ml，最后用蒸馏水稀释至刻度。

9. 考马斯亮蓝 G-250 染液 称取 0.1g 考马斯亮蓝 G-250，溶解于 50ml 95% 乙醇中，加入 85% 磷酸 100ml，最后用蒸馏水定容至 1000ml，过滤，在棕色瓶中保存。此溶液不宜久存，

在常温中可放置 1~2 个月。

10. 扩展剂（水饱和的正丁醇和乙酸混合液） 将正丁醇和乙酸以体积比 4:1 在分液漏斗中进行混合，所得混合液再按体积比 5:3 与蒸馏水混合，充分振荡，静置后分层，放出下层水层，分液漏斗中的溶液即为扩展剂。

11. 0.01 mol/L pH 7.0 磷酸盐缓冲液 称取无水 Na_2HPO_4 18.5 g 和 KH_2PO_4 5.3 g 溶解于 800 ml 蒸馏水中，用少量 1 mol/L NaOH 或 HCl 调 pH 至 7.0，再加蒸馏水稀释至 1L。

12. 酶试剂 取 GA 1200 U、PA 1200 U、4-氨基安替匹啉 10 mg、叠氮钠 100 mg，加 0.01 mol/L (pH 7.0) 磷酸盐缓冲液至 80 ml 左右，调 pH 至 7.0，再加该磷酸盐缓冲液至 100 ml，混匀。冰箱内保存可稳定 3 个月。

13. 苯酚试剂 苯酚 100 mg 溶解于 100 ml 蒸馏水中。因苯酚易在空气中氧化成红色，可先配制成浓度为 50 g/dl 的溶液，贮存于棕色瓶中。临用前稀释。

14. 酶-酚混合试剂 将酶试剂和苯酚试剂等体积混合，即得酶-酚混合试剂。冰箱内保存可稳定 1 个月。

15. 葡萄糖标准贮存液 (20 mg/ml) 将无水 D-葡萄糖于 80℃ 烤箱内干燥恒重，冷却后，称取 2.0 g，以 0.25% 苯甲酸溶解，稀释，定容至 100 ml。

16. 葡萄糖应用标准液 (5.5 mmol/L) 取葡萄糖标准贮存液 5 ml，加 0.25% 苯甲酸溶液稀释，定容至 100 ml。

17. 蛋白沉淀剂 称取 Na_2HPO_4 10 g、 Na_2WO_4 10 g、 NaCl 19 g，溶解于 800 ml 蒸馏水中，再加入 1 mol/L HCl 125 ml，加蒸馏水至 1000 ml，混匀。

18. 胆固醇液体酶试剂

Good's 缓冲液 (pH 6.7)	50 mmol/L
胆固醇酯酶	≥200 U/L
胆固醇氧化酶	≥100 U/L
过氧化物酶	≥3000 U/L
4-AAP	0.3 mmol/L
苯酚	5 mmol/L

19. 5.17 mmol/L (200 mg/dl) 胆固醇标准溶液 精确称取胆固醇 200 mg，用异丙醇配制成 100 ml 溶液，分装后，置 4℃ 环境下保存，临用时取出。

20. 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 7.4) 称取无水 Na_2HPO_4 9.47 g 和 KH_2PO_4 9.078 g，分别溶解于 1000 ml 蒸馏水中。分别取磷酸氢二钠溶液 825 ml 与磷酸二氢钾溶液 175 ml，混匀即可。

21. GTP 基质液 称取 α-酮戊二酸 29.2 mg 和 DL-丙氨酸 1.78 g，溶解于 20 ml pH 7.4 的磷酸盐缓冲液中，再加该缓冲液 70 ml，并移入 100 ml 容量瓶中，加 1 mol/L 氢氧化钠溶液 0.5 ml，调 pH 至 7.4，再以 pH 7.4 的磷酸盐缓冲液定容。贮存于冰箱中备用，可保存 1 周时间。

22. 2,4-硝基苯肼溶液 称取 2,4-二硝基苯肼 20 mg，先溶解于 10 ml 浓盐酸中，再以蒸馏水稀释至 100 ml，置棕色试剂瓶内保存。

23. 丙酮酸标准液 精确称取丙酮酸钠 22 mg，溶解后转入 100 ml 容量瓶中，用 pH 7.4 的磷酸盐缓冲液定容即可。

24. TE 溶液 取 1 mol/L pH 8.0 的 Tris-HCl 5 ml，0.5 mol/L EDTA 1 ml，加 400 ml 双蒸水，混匀，定容至 500 ml，高压灭菌。

25. 10% SDS 将 10 g SDS 溶解于 60 ml 左右双蒸水，定容至 100 ml，高压灭菌。