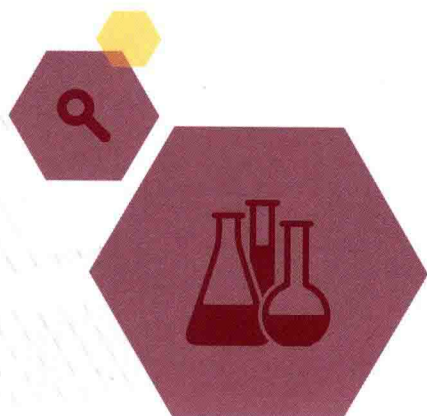


国家级药理学实验教学（示范）中心实验系列教材

# 生物化学与分子生物学 实验教程

主 编 付爱玲

**Biochemistry and  
Molecular Biology Laboratory Course**



科学出版社

国家级药学实验教学(示范)中心实验系列教材

# 生物化学与分子生物学实验教程

付爱玲 主编

科学出版社

北京

## 内 容 简 介

本教程包含了生物化学与分子生物学的实验内容,是帮助学生验证生物化学与分子生物学的理论、理解生物化学原理以及掌握分子生物学方法的理论和实验技术操作的指导用书。

本教程第一章介绍了生物化学与分子生物学实验操作的基本要求和常用仪器的使用与维护;第二章设计了糖类、脂类、蛋白质等方面的经典生物化学与分子生物学实验;第三章涉及 Western blotting、RT-PCR 以及 RNA 的操作技术和基因组编辑技术等目前热门的生物化学与分子生物学技术;第四章安排了实践性强的实验;第五章对计算机仿真技术做了必要的介绍。

本教程可供药学、医学及生物学等专业的本科生和研究生实验课使用,也可作为医药专业研究工作者的参考书籍。

### 图书在版编目(CIP)数据

生物化学与分子生物学实验教程 / 付爱玲主编. —北京:  
科学出版社, 2015.6

国家级药学实验教学(示范)中心实验系列教材

ISBN 978-7-03-045107-1

I. ①生… II. ①付… III. ①生物化学-实验-高等学校-教材②分子生物学-实验-高等学校-教材 IV. ①Q5-33  
②Q7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 132942 号

责任编辑: 杨 岭 华宗琪 / 责任校对: 贺江艳

责任印制: 余少力 / 封面设计: 墨创文化

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>

四川煤田地质制图印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2015年6月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2015年6月第一次印刷 印张: 9 1/2

字数: 220千字

定价: 28.00元

西南大学 国家级药学实验教学（示范）中心  
国家级药学虚拟仿真实验教学中心

## 实验系列教材编委会

主任	黄承志			
副主任	陈章宝	胡昌华	罗永煌	
委员	黄承志	陈章宝	胡昌华	罗永煌
	付爱玲	邹祥	陈敏	袁吕江
	邓君	刘艳飞	刘伟	杨星刚
	廖国建	祝慧凤		

## 《生物化学与分子生物学实验教程》编委会

主编	付爱玲（西南大学）		
副主编	李琼	刘艳飞	刘雪梅
编委	柳长柏（三峡大学）		
	黄宇琪（西南大学）		
	李晓荣（西南大学）		
	张兴梅（南方医科大学）		

## 总 序

创新是以新思维、新发明和新描述为特征的一种概念化过程，创新是一个民族发展的灵魂，是一个民族进步的不竭动力，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，创新更是引领发展的第一动力。因此，培养大学生创新能力是 21 世纪高等教育适应经济社会发展需要，是提高人才培养质量的必然要求，但这也是目前高校人才培养中普遍存在的薄弱环节。实验教学是理论教学的一种延续，既能让学生对课堂上所学知识进行消化和吸收，又能有效地训练学生的实验技能，培养学生的观察能力、实践能力、创新能力、创新精神和科学素养。因此，实验教学作为教学活动的有机组成部分，是培养高素质创新型人才的重要教学环节，其地位无可替代。实验教材则是体现实验内容、教学方法和人才培养思想的载体，是培养高素质创新型人才的重要保证。因此，强化以培养创新能力为目标的实验教材建设，对改革实验教学体系、提高实验教学质量、实现人才培养目标具有重大的作用。

为了加强大学生实践能力和创新能力的培养，西南大学国家级药学实验教学(示范)中心在教学实践中坚持“以学生为本，将知识传授、能力培养和素质提高贯穿于实验教学始终”的指导思想，秉持“实践创新，能力至上”的实验教学理念，按照“能力培养，虚实结合、从基础到专业，从认知训练到创新应用，从学校到社会”的原则建立和完善实验教学体系。中心结合多年开展实践教学的有益经验和实验教学体系，组织长期从事本科实践教学的教师编写本套实验教材，旨在与国内药学领域的专家和兄弟院校交流，分享中心取得的点滴经验和成果，也为药学类专业的实践教学和人才培养提供实践教学指导。为了进一步促进大学生实践创新能力的培养，我们推出了本套药学创新实验系列教材。教材按照实验的基本要求、验证性实验、综合性实验、设计性实验和虚拟仿真实验等层次进行编写。

西南大学国家级药学实验教学(示范)中心(<http://etcp.swu.edu.cn/>)由真实实验教学和虚拟仿真实验教学组成，是西南大学开展药学类专业及相关专业人才培养、科研服务和文化遗产的核心平台之一，她承担着西南大学药学类及相关专业的实验教学及研究任务，并面向社会开放，承担着全国高校、院所和企业的实验技能培训、大学生夏令营和冬令营的实验教学工作。中心自 2003 年开始建设以来，不断整合校内药学类相关实验教学资源进行建设，于 2007 年成为西南大学校级药学实验教学示范中心，2009 年成为重庆市市级药学实验教学示范中心，2012 年经教育部批准为“十二五”国家级药学实验教学(示范)中心。作为实验教学的一个重要补充，西南大学国家级药学虚拟仿真实验教学中心(<http://yxxf.swu.edu.cn/>)于 2014 年被教育部批准为全国首批 100 个虚拟仿真实验教学中心之一，也是全国首批 3 个药学/中药学虚拟仿真实验教学中心之一。

西南大学实验教学的发展得到了国内外各兄弟院校和同仁的支持与帮助，在此向他们表达诚挚的谢意。同时，也希望在各方的支持与帮助下，中心的实践教学得到更好的发展。

药学创新实验教材编委会

2015年2月于重庆北碚

## 前 言

21 世纪被认为是生命科学的世纪。生物化学与分子生物学作为生命科学微观世界的重要学科，其发展日新月异，并且广泛、深度地影响着药学、医学、生物学等学科，已成为近代医药学教育中的重要课程。掌握这门课程的实验方法和术语对从事医药学工作是十分必要的。

从某种意义上说，生物化学与分子生物学课程中的很多重要概念和相关的方法学原理，只有在实验室才能真正学会和掌握。经历过这门学科从本科到研究生系统学习的人都会有一种共同的感受，即如果只停留在理论学习上，那么即使学习再认真，也很难真正理解很多抽象的概念与原理。

生物化学与分子生物学实验有其独特性，多数实验需要用到特殊的仪器设备。在进入正式实验课程之前，有必要让学生系统了解实验室的基本规则、实验操作的基本要求，以及常用仪器、设备的使用方法与维护，便于培养学生良好的实验室工作习惯。因此，本教程在第一章中就实验室基本规则、玻璃仪器的洗涤方法、移液器的使用以及离心等常用实验操作基本技能，分光光度计、离心机、pH 计等常用仪器设备的工作原理和使用方法进行了介绍。

本教程中的验证性实验对生物体内五类重要的生物大分子——糖类、脂类、蛋白质、核酸和酶的分离、纯化及分析技术进行介绍。糖类和脂类是生物体的必要组成部分并执行多种功能；蛋白质是生命活动的物质基础，具有多种重要的生理功能；核酸是遗传物质，决定着遗传信息的传递；酶催化体内各种物质代谢的进行，是生物体新陈代谢的基本保证。研究生物大分子的结构与功能是现代分子生物学的重要内容。五类大分子的实验技术是研究其结构功能的基础，有助于人们从分子水平了解和揭示生命现象的本质。

最近几十年，生物化学与分子生物学领域的研究发展迅猛，取得了许多前所未有的重大成果。这一切都离不开一系列新技术、新方法的不断涌现。蛋白质-蛋白质相互作用分析、蛋白质-DNA 相互作用分子等已经成为现代分子生物学实验室不可或缺的技术方法。本教程收编的免疫共沉淀、RT-PCR、Western blotting、基因组编辑技术等 7 个综合实验，均为先进的生物化学与分子生物学研究领域常用的高级技术，此部分可作为生物化学与分子生物学专业及其他相关专业研究生的实验教材，也可作为专业研究人员的参考材料。

本教程是在我们多年使用的本科生和研究生生物化学与分子生物学实验讲义的基础上，经修订和改编而成。每次实验以实验目的、器材、试剂与材料、操作方法、思考题等 5 个板块加以编写。根据学科发展，在原有实验讲义的基础上，增加了一些内容新颖、技术先进、教学实用型强的实验，有力培养学生的综合实验素质和科研创新能力。

本教程的编写者为西南大学、三峡大学和南方医科大学的骨干教师，多数具有博士学位，并且在国外做过多年研究工作，他们承担生物化学与分子生物学教学与科研工作

多年，既有丰富的教学经验，又有扎实的实验室工作基础，他们编写的实验教材有较强的针对性和实用性。本书在编写和出版过程中，得到了科学出版社编辑的大力支持与协助，在此表示感谢。

由于本教程在编写形式和实验内容方面进行了新的尝试，经验不足，而且编写时间仓促，难免存在疏漏与不妥之处，恳请同行及使用者予以批评指正。

编者

2015年5月



# 目 录

第一章 生物化学与分子生物学实验的基本要求 .....	1
第二章 验证性实验 .....	18
第一节 糖类的化学 .....	18
实验一 还原糖和总糖的测定——3, 5-二硝基水杨酸比色法 .....	18
实验二 总糖的测定——蒽酮比色法 .....	20
第二节 脂类的化学 .....	22
实验三 粗脂肪的提取和定量测定 .....	22
实验四 血清总胆固醇的测定——邻苯二甲醛法 .....	23
第三节 蛋白质的化学 .....	25
实验五 蛋白质的性质实验——蛋白质及氨基酸的呈色反应 .....	25
实验六 蛋白质的含量测定 .....	29
实验七 氨基酸的分离鉴定——纸层析法 .....	37
实验八 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)测定未知蛋白质相对分子质量 .....	38
实验九 等电聚焦电泳测定蛋白质等电点 .....	41
第四节 核酸的化学 .....	44
实验十 紫外吸收法测定核酸的含量 .....	44
实验十一 质粒 DNA 的酶切与鉴定 .....	45
实验十二 聚合酶链式反应技术(PCR) .....	48
实验十三 小鼠肝脏中核酸的提取与鉴定 .....	50
实验十四 菜花(花椰菜)中核酸的提取与鉴定 .....	52
第五节 酶 .....	55
实验十五 酶的特性 .....	55
实验十六 底物浓度对酶促反应速度的影响——米氏常数的测定 .....	58
实验十七 氨基转换反应——谷丙转氨酶活性鉴定(纸层析法) .....	60
实验十八 乳酸脱氢酶粗提液的制备及活力测定 .....	62
实验十九 枯草杆菌蛋白酶活力测定 .....	65
第六节 新陈代谢 .....	67
实验二十 肌糖原的酵解作用 .....	67
实验二十一 脂肪酸 $\beta$ -氧化 .....	69

<b>第三章 综合实验</b> .....	72
实验二十二 血清甘油三酯的含量测定 .....	72
实验二十三 外源基因在大肠杆菌的诱导表达及其表达产物的初步纯化 .....	74
实验二十四 蛋白质免疫印迹技术 .....	77
实验二十五 免疫共沉淀 .....	81
实验二十六 肝细胞总 RNA 提取与鉴定 .....	85
实验二十七 RT-PCR 技术 .....	88
实验二十八 基因组编辑技术 .....	91
<b>第四章 自主设计实验</b> .....	97
实验二十九 自血清中分离及纯化抗体(IgG) .....	97
实验三十 从动物毛发中提取 DNA 进行指纹图谱分析 .....	99
实验三十一 表皮生长因子-绿色荧光蛋白基因重组及蛋白原核表达 .....	101
<b>第五章 仿真实验介绍</b> .....	104
实验三十二 蛋白质免疫印迹技术 .....	105
<b>附录一 常见的实验仪器、方法及基本原理</b> .....	110
第一节 分光光度法与分光光度计 .....	110
第二节 离心技术与离心机 .....	113
第三节 电泳技术与电泳仪 .....	117
第四节 层析技术与层析柱 .....	121
<b>附录二 常用缓冲溶液的配制方法</b> .....	132
<b>附录三 常用酸碱指示剂</b> .....	137
<b>附录四 标准溶液的配制和标定</b> .....	138
<b>参考文献</b> .....	140

# 第一章 生物化学与分子生物学实验的基本要求

## 一、实验室规则

(1)实验前认真预习实验内容,熟悉本次实验的目的、基本原理、操作步骤和实验技能,写好实验预习报告。并且,提前学习和了解各种安全信息。

(2)每个同学都应该自觉遵守课堂纪律,维护课堂秩序。不迟到,不早退。保持室内安静,不大声谈笑。积极参与一些服务型的工作。

(3)实验时要听从指导老师的指导,记下重点,严格认真地按操作规程进行实验,并注意与同组同学配合操作。实验数据和现象应随时记录在专用的实验记录本上。实验结束时,必须将实验记录送指导老师审阅,然后方可离开实验室。课后尽快完成实验报告并按时上交。

(4)精心爱护各种仪器,且随时保持仪器的清洁。如仪器发生故障,应立即停止使用并报告指导老师;公用仪器和药品用后放回原处。使用仪器、药品、试剂和各种物品时必须注意节约;不得用个人的吸管量取公用药品,多取的药品不得重新倒入原试剂瓶内。公用试剂瓶的瓶塞要随开随盖,不得混淆。

(5)实验过程中要保持台面、地面、水槽内及室内整洁。实验课本放在工作区附近,但不要放在工作区以内;干净的器具和使用过的器具要分开放。实验完成后应将仪器洗净,置于实验柜中并排列整齐;如有损坏须说明原因,经指导老师同意后方可补领。每次实验完毕,必须拖地。

(6)实验室内一切物品,未经该室负责教员批准,严禁携出室外,借物必须办理登记手续。交指导老师保存的样品、药品及其他物品都应加盖,并标注自己的姓名、班级、日期及内容物。

(7)每次实验课由班长或课代表负责安排值日生。值日生的职责是负责当天实验室的卫生、安全工作,并收集同学对单次实验内容和安排不合理地方的意见和建议。

(8)实验过程中要高度重视保护实验人员的人身健康和生命安全,保护周围环境。不准在实验室内进食、饮水和吸烟;含强酸、碱及有毒的废液应倒入废液缸;书包及实验不需之物品应放在规定处;离开实验室前应该检查水、电、煤气是否关严。

## 二、实验记录及实验报告

### (一)实验记录

应详细、准确、如实地做好实验记录(如果记录有误,则整个实验就没有意义)。这也是培养实验能力,以及养成严谨科学作风和良好习惯的一个重要途径。

(1)每位同学都必须准备一本实验记录本,实验前认真预习实验,看懂实验原理和操作方法,在记录本上写好实验预习报告,包括详细的实验操作步骤(可以用流程图表示)和数据记录表格等。

(2)实验记录要用永久性墨水书写,记录本上要编好页码,不得撕缺和涂改,写错时可以划去重写。同组同学合作做同一实验时,每人都必须有完整的记录。

(3)在实验条件下观察到的现象,以及观测到的每个结果和数据都应及时如实地直接记在记录本上,且记录必须准确、简练、详尽、清楚。实验记录必须公正客观,不可夹杂主观因素。

(4)实验中要记录的各种数据,都应事先在记录本上设计好各种记录格式和表格,以免实验中由于忙乱而遗漏测量和记录,造成不可挽回的损失。

(5)实验记录要注意有效数字。每个结果都要尽可能重复观察两次以上,即使观测到的数据相同或偏差很大,也都应如实记录,不得涂改。

(6)实验中要详细记录实验条件,如使用的仪器型号、编号、生产厂家,生物材料的来源、形态特征、健康状况、选用组织及其重量,试剂的规格、化学式、分子质量、试剂的浓度等都应记录清楚。

(7)如果发现记录的结果丢失、有遗漏,或对记录的结果产生置疑,都必须重做实验。

## (二)实验报告的书写

实验报告是实验的总结和汇报。通过写作实验报告可以分析总结实验中的经验和问题,学会处理各种实验数据的方法,加深对实验原理和实验技术的理解和掌握,同时也是学习撰写科学研究论文的过程。实验结束后,应及时整理和总结实验结果,写出实验报告。

实验报告的思路应为:①实验目的;②实验原理;③主要仪器及试剂配制;④实验步骤;⑤数据处理;⑥结果与讨论。

定性实验报告中,实验名称以及目的和要求,是针对该次实验课的全部内容,以及必须达到的目的和要求。在完成实验报告时,可以按照实验内容分别写原理、操作方法、结果与讨论等。原理部分应简述实验的基本原理。操作方法(或步骤)可以流程简图的方式或自行设计的表格来表示。“结果与讨论”包括实验结果及观察现象的小结、对实验课遇到的问题和思考题进行的探讨,以及对实验的改进意见等。

定量实验报告中,对于目的和要求、原理及操作方法部分应简单扼要地叙述,但是对于实验条件(试剂配制及仪器)和操作的关键环节必须写清楚。对于实验结果部分,应根据实验课的要求将一定实验条件下获得的实验结果和数据进行整理、归纳、对比和分析,并尽量总结成各种图表,如原始数据及其处理的表格、标准曲线图,以及比较实验组与对照组实验结果的图表等。另外,还应针对实验结果进行必要的说明和分析。讨论部分可以包括:关于实验方法(或操作技术)和有关实验的一些问题,如实验的正常结果和异常现象。

实验报告中使用的语言要简明清楚,抓住关键,各种实验数据要一目了然。对实验结果的讨论要充分,尽可能地查阅一些有关的文献和教科书,充分运用已学过的知识和

生物化学原理,进行深入探讨,勇于提出自己独到的分析和见解,并对实验提出改进意见。

### 三、实验室基本操作

#### (一)玻璃仪器的洗涤及各种洗液的配制方法

实验中所使用的玻璃仪器清洁与否,直接影响实验结果,往往由于仪器的不清洁或被污染而造成较大的实验误差,甚至会出现相反的实验结果。因此,玻璃仪器的洗涤清洁工作是非常重要的。

##### 1. 初用玻璃仪器的清洗

新购买的玻璃仪器表面常附着有游离的碱性物质,可先用洗涤灵稀释液、肥皂水或去污粉等洗刷,再用自来水洗净,然后浸泡在1%~2%盐酸溶液中过夜(不少于4 h),再用自来水冲洗,最后用蒸馏水冲洗2~3次,在80~100℃烘箱内烘干备用。

##### 2. 使用过的玻璃仪器的清洗

(1)一般玻璃仪器,如试管、烧杯、锥形瓶等。先用自来水洗刷至无污物;之后选用大小合适的毛刷蘸取洗涤灵稀释液或浸入洗涤灵稀释液内,将器皿内外(特别是内壁)细心刷洗,用自来水冲洗干净后,再用蒸馏水冲洗2~3次;最后将器皿烘干或倒置在清洁处控干,以备用。凡洗净的玻璃器皿,在器壁上不应带有水珠,否则表示尚未洗干净,应再按上述方法重新洗涤。若发现内壁有难以去掉的污迹,应分别试用将于下文介绍的各种洗涤剂予以清除,再重新冲洗。

(2)量器,如移液管、滴定管、量瓶等。使用后应立即将其浸泡于凉水中,勿使残留在内的物质干涸。工作完毕后用流水冲洗量器,除去附着的试剂、蛋白质等物质,晾干后将其浸泡在铬酸洗液中4~6 h(或过夜),再用自来水充分冲洗、最后用水冲洗2~4次,风干备用。

(3)其他器具。具有传染性样品的容器,如被病毒、传染病患者的血清等沾污过的容器,应先进行高压(或其他方法)消毒后再进行清洗。盛过各种有毒药品,特别是剧毒药品和放射性同位素等物质的容器,必须经过专门处理,确认没有残余毒物存在后方可进行清洗。石英和玻璃比色皿绝不用强碱清洗,因为强碱会腐蚀抛光的比色皿。

##### 3. 洗涤液的种类和配制方法

(1)铬酸洗液:将研细的重铬酸钾2 g溶于4 mL水中,慢慢加入36 mL浓硫酸,待其冷却后将之贮存于磨口玻璃瓶内。该洗液用于去除器壁残留油污。铬有致癌作用,因此配制和使用洗液时要极为小心。

(2)5%草酸溶液:用数滴硫酸酸化,可洗去高锰酸钾的痕迹。

(3)5%~10%磷酸三钠( $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )溶液:可洗涤油污物。

(4)30%硝酸溶液:洗涤二氧化碳测定仪器及微量滴管。

(5) 5%~10%乙二胺四乙酸二钠(EDTA- $\text{Na}_2$ )溶液: 加热煮沸可洗脱玻璃仪器内壁的白色沉淀物。

(6) 尿素洗涤液: 为蛋白质的良好溶剂, 适用于洗涤盛蛋白质制剂及血样的容器。

(7) 酒精与浓硝酸混合液: 最适于洗净滴定管, 在滴定管中加入 3 mL 酒精, 然后沿管壁慢慢加入 4 mL 浓硝酸(相对密度 1.4), 盖住滴定管管口, 利用所产生的氧化氮洗净滴定管。

(8) 有机溶剂: 如丙酮、乙醇、乙醚等可用于洗去油脂、脂溶性染料等污痕。二甲苯可洗脱油漆的污垢。

(9) 氢氧化钾的乙醇溶液和含有高锰酸钾的氢氧化钠溶液: 是两种强碱性的洗涤液, 对玻璃仪器的侵蚀性很强, 可清除容器内壁污垢, 但洗涤时间不宜过长。使用时应小心慎重。

上述洗涤液可多次使用, 但是使用前必须将待洗涤的玻璃仪器先用水冲洗多次, 以除去肥皂、去污粉或各种废液。若仪器上有凡士林或羊毛脂时, 应先用纸擦去, 再用乙醇或乙醚擦净后才能使用洗液, 否则会使洗涤液迅速失效。例如, 肥皂水、有机溶剂(乙醇、甲醛等)及少量油污都会使重铬酸钾-硫酸洗液变成绿色, 减低洗涤能力。

## (二) 玻璃仪器的干燥

对于做实验时经常要用到的仪器, 应在每次实验完毕之后将之洗净并干燥以备用。用于不同实验的仪器对干燥有不同的要求, 一般定量分析中的烧杯、锥形瓶等仪器洗净后即可使用; 而用于有机化学实验或有机分析的仪器很多则是要求干燥的, 有的要求无水迹, 有的要求无水。应根据不同要求来干燥仪器。

(1) 晾干(控干)。不急用的, 要求一般干燥, 可在用纯水涮洗后, 在无尘处倒置控去水分, 然后自然干燥。可用安有斜木钉的架子和带有透气孔的玻璃柜放置仪器。

(2) 烘干。将洗净的仪器控去水分, 放在电烘箱中烘干, 烘箱温度为 105~120 °C, 烘 1 h 左右; 也可放在红外灯干燥箱中烘干。此法适用于一般仪器。称量用的称量瓶等在烘干后要放在干燥器中冷却和保存。带实心玻璃塞的容器及厚壁仪器烘干时要注意慢慢升温并且温度不可过高, 以免烘裂, 此法不能用于精密度高的容量仪器。

硬质试管可用酒精灯烘干, 要从底部烘起, 把试管口向下, 以免水珠倒流把试管炸裂, 烘到无水珠时, 把试管口向上赶净水汽。

(3) 热(冷)风吹干。对于急于干燥的仪器或不适合放入烘箱的较大的仪器, 可用吹干的办法, 通常将少量乙醇、丙酮(或最后再用乙醚)倒入已控去水分的仪器中摇洗控净溶剂(溶剂要回收), 然后用电吹风吹, 开始用冷风吹 1~2 min, 当大部分溶剂挥发后吹入热风至完全干燥, 再用冷风吹残余的蒸气, 使其不再冷凝在容器内。此法要求通风好, 防止中毒, 不可接触明火, 以防有机溶剂爆炸。

(4) 有机溶剂法。先用少量丙酮或无水乙醇使内壁均匀润湿后倒出, 再用乙醚使内壁均匀润湿后倒出。再依次用电吹风冷风和热风吹干, 此种方法又称为快干法。

## (三) 玻璃仪器的保管

在储藏室内玻璃仪器要分门别类地存放, 以便取用。经常使用的玻璃仪器放在实验

柜内,要放置稳妥,高的、大的放在里面,以下提出一些仪器的保管办法。

(1)移液管。洗净后置于防尘的盒中。

(2)滴定管。用后,洗去内装的溶液,洗净后装满纯水,上盖玻璃短试管或塑料套管,也可倒置夹于滴定管架上。

(3)比色皿。使用完毕洗净后,在瓷盘或塑料盘中置垫滤纸,将比色皿倒置在上面晾干后装入比色皿盒或清洁的器皿中。

(4)带磨口塞的仪器。容量瓶或比色管最好在洗净前就用橡皮筋或小线绳把塞和管口拴好,以免打破塞子或互相弄混。需长期保存的磨口仪器要在塞间垫一张纸片,以免日久黏住。长期不用的滴定管要在除掉凡士林后垫纸,并用皮筋拴好活塞保存。

(5)成套仪器。如索氏萃取器、气体分析器等用完要立即洗净,放在专门的纸盒里保存。

总之,对于一切玻璃仪器用完后,都要将之清洗干净,并按要求保管。要养成良好的工作习惯,不要在仪器里遗留油脂、酸液、腐蚀性物质(包括浓碱液)或有毒药品,以免造成后患。

#### (四)搅拌和振荡

配置溶液时,必须充分搅拌或者振荡混匀。常用的混匀溶液的方法有以下三种。

##### 1. 搅拌式

这种方法适用于烧杯内溶液的混匀。

(1)搅拌时使用的玻璃棒必须两头都烧圆滑。

(2)玻璃棒的粗细长短,必须与容器的大小和所配置的溶液的多少呈适当比例关系。

(3)搅拌时,尽量使搅拌棒沿着器壁运动,不搅入空气,不使溶液飞溅。

(4)倾入液体时,必须沿着器壁慢慢倾入,以免有大量空气混入。倾倒表面张力低的液体(如蛋白质溶液)时,更需缓慢仔细。

(5)研磨配制胶体溶液时,要使杵棒沿着研钵的一个方向进行,不要来回研磨

##### 2. 旋转式

这种方法适用于锥形瓶、大试管内溶液的混匀。振荡溶液时,手握住容器后以手腕、肘或肩部作轴旋转容器,不应上下振荡。

##### 3. 弹打式

这种方法适用于离心管、小试管内溶液的混匀。可由一手持管的上端,用另一手的手指弹动离心管;也可以用同一手的大拇指和食指持管的上端,用其余三个手指弹动离心管。手指持管的松紧要随着振动的幅度变化。还可以把两手掌心相对合拢,夹住离心管来回搓动。

在容量瓶中混合液体时,应倒持容量瓶摇动,用食指或者手心顶住瓶塞,并不时翻转容量瓶。

在分液漏斗中振荡液体时,应用一手在适当斜度下倒持漏斗,用食指或者手心顶住

瓶塞，并用另一手控制漏斗的活塞，一边振荡，一边开动活塞，使气体可以随时由漏斗泻出。

### (五) 刻度吸管的使用

(1) 刻度吸管是由上而下(或由下而上)刻有容量数字、下端拉尖的圆形玻璃管。用于量取体积不需要十分准确的溶液。

(2) 刻度吸管有“吹”、“快”两种形式。使用标有“吹”字的刻度吸管时，溶液停止流出后，应将管内剩余的溶液用吸耳球吹出；使用标有“快”字的刻度吸管时，待溶液停止流出后，一般等待 15 s 拿出。

(3) 量取时，最好选用略大于量取量的刻度吸管，这样溶液可以不放至尖端，而是放到一定的刻度(读数的方法与移液管相同)。

### (六) 可调式微量移液器的使用

微量移液器替代了过去的玻璃吸管，作为一种方便有效的计量仪器已经被广泛用于各种实验，且种类越来越多，包括单道移液器、多道移液器、电子移液器、瓶口移液器等(图 1-1)。特别在痕量分析和分子生物学实验中，微量移液器越来越显示出其无比的优越性。其主要部件包括按钮、套筒、弹射器、吸头、连接螺帽等。旋转按钮可设定容量，按压按钮可吸取或排出液体；按压弹射器可脱卸吸头。根据容量设定是否连续可调，可将移液器分为连续可调式和非连续可调式两类。一般对度量要求高的操作需选择连续可调式。连续可调式移液器都装有读数容量计，在移液器容量范围内能连续调节。移液器的最大吸液量(即最大容量值)一般标注在加样器上。

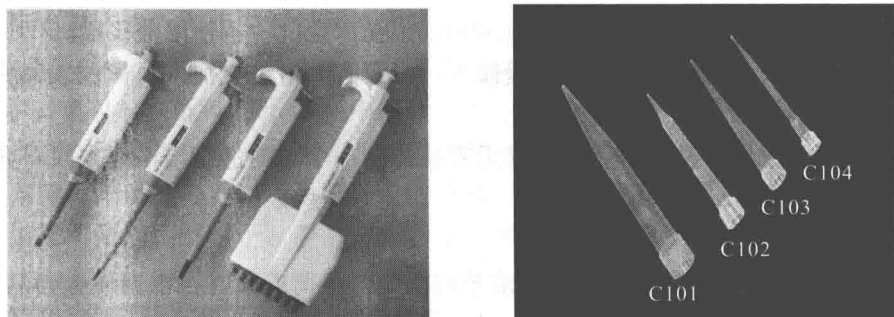


图 1-1 微量移液器及配套吸头

但是，作为实验室的一种常用计量仪器，微量移液器的移液误差也是不可避免的，且不同的移液方式引起误差的大小也是不同的，对不同性质液体的移液误差的大小也不同，移液误差对不同临床检验项目检测结果的影响也不同。因此，实验室工作人员必须清楚微量移液器的每一个操作细节，掌握微量移液器的正确使用方法。

#### 1. 移液器的使用操作

(1) 根据移液量选取合适的移液器。移液量应在加样器的容量范围之内。

(2) 旋转按钮，设定容量值。注意旋转速度应均匀、缓慢，切不可超出最大或最小容



量范围。

(3)选取一支合适的吸头安放在移液器套筒上,稍加扭转使吸头与套筒间无间隙。

(4)将按钮压至第一挡,垂直握持移液器,垂直进入液面几毫米。

(5)吸液。缓慢、平稳地松开控制按钮,否则液体进入吸头太快会导致液体倒吸入移液器内部,或吸入量减小;等1s,然后将吸头提出液面,靠在容器内壁,使吸头外面附着的液滴流下,或用无菌滤纸抹去吸头外面可能附着的液滴。

(6)放液。打出液体时将吸头口贴壁并保持 $10^{\circ}\sim 40^{\circ}$ 倾斜,先按到第一挡,稍微停顿1s后,待剩余液体聚集后,再按到第二挡将剩余液体全部打出。

(7)按吸头弹射器除去吸头。

## 2. 微量移液器的校准

所有微量移液器出厂时都符合国际DIN 12650标准。但是由于操作错误、微量移液器受损或污染等外部环境因素均会导致移液体积与目标严重偏离。

(1)操作错误:移液器本身在倾斜状态下吸液;与吸头不匹配,造成吸头脱落、难以脱卸;残留的试剂倒流,污染活塞和密封圈;快速吸液、排液,导致部分液体残留在吸头上;直接按到第二挡进行吸液;使用丙酮或强腐蚀性的液体清洗加样器。

(2)移液器损坏:移液器的头部被刮擦,断裂受损。活塞受污染,弹簧受腐蚀。

(3)操作条件的影响:吸取与水不同密度的液体,而未作调整;样品和移液器的温度差别太大(移液器 $22^{\circ}\text{C}$ ,样品 $4^{\circ}\text{C}$ );校准时,室内温度波动范围太大(应控制在 $20\sim 25^{\circ}\text{C}$ )。

由于上述情况常常致使移液体积不准确,因此在使用前应对仪器进行校准。

(1)气密性检测。移液器吸满液体后,手持垂直放置15s,检查吸嘴的尖头有无液滴,如有则说明漏气。

(2)准确性检测。如果量程小于 $1\mu\text{L}$ ,建议使用分光光度法检测。将移液器调至目标体积,然后移取染料溶液(如0.3%曙红液),加入一定体积的蒸馏水中,测定溶液的吸光度(波长508nm),重复几次移液操作,计算移液器的精确度。如果量程大于 $1\mu\text{L}$ ,可用水称重法检测。通过对水的称量,转换成体积(体积=质量/密度),用于鉴别移液器的准确性。

水称重法校准移液器具体步骤如下:①将移液器调至拟校准体积,选择合适的吸头;②调节好天平,称量预先准备好的一个小称量烧杯,用移液器来回吹吸蒸馏水3次,以使吸头湿润,用滤纸拭干吸头;③垂直握住移液器,将吸头浸入液面,缓慢(1~3s)并一致地吸取蒸馏水;④将吸头移出液面,靠在管壁,去掉吸头外部的液体;⑤将移液器以 $10^{\circ}\sim 40^{\circ}$ 倾斜插入称量烧杯中,缓慢并一致地将移液器压至第一停点,等待1~3s,再压至第二停点,使吸头里的液体完全排出;⑥记录小烧杯的称量值;⑦擦干吸头外面。⑧重复步骤②~⑦,再称量10次;⑨取后10次所吸液体重量测定值的均值作为移液器吸取的蒸馏水重量(单位:g),按表1-1所列蒸馏水重量与体积换算因子(Z因子)计算体积;⑩按校准结果调节移液器。