

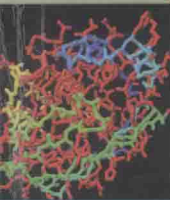


iCourse · 教材
高等农林院校基础课程系列



自主创新
方法先行

动物生物化学实验技术教程



主编 李庆章

高等教育出版社



iCourse · 教材
高等农林院校基础课程系列



自主
方法

动物生物化学实验技术教程

主 编 李庆章

副主编 张 莉 苏建明 刘 霞

编 者 (按姓氏拼音排序)

汉丽梅 (沈阳农业大学)

刘国权 (华中农业大学)

李庆章 (东北农业大学)

张 莉 (东北农业大学)

刘 霞 (甘肃农业大学)

刘建昌 (福建农林大学)

苏建明 (湖南农业大学)

高等教育出版社·北京

内容提要

全书共5章45个实验,具体包括绪论、实验操作常识、基础验证性动物生物化学实验技术、综合提高性动物生物化学实验技术、研究创新性动物生物化学实验技术。本书采用了“纸质教材+数字课程”的出版形式,根据动物生物化学实验的课程体系,在数字课程中配套设计了辅教类、辅学类和拓展类三大类学习资源,内容包括拓展学习、教学课件、经典文献、讲解录像、习题与参考答案等模块。针对第三章、第四章的实验项目,特别编写了相关的实验原理、技术原理等数字课程内容。

该教材读者对象主要是动物医学类(动物医学、动物药学)、动物生产类(动物科学、蚕学、蜂学)、水产类(水产养殖学、海洋渔业科学与技术)、自然保护与环境生态类(野生动物与自然保护地管理)等专业和选修或辅修该课程的其他专业本科生,也可作为相关专业研究生和生物科学研究工作者的基本参考书。

图书在版编目(CIP)数据

动物生物化学实验技术教程 / 李庆章主编. -- 北京 :
高等教育出版社, 2015.8

iCourse·教材·高等农林院校基础课程系列
ISBN 978-7-04-042729-5

I. ①动… II. ①李… III. ①动物学-生物化学-
实验-高等学校-教材 IV. ①Q5-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2015)第140975号

项目策划 王瑜 李光跃 陈琪琳 李艳馥 吴雪梅

策划编辑 孟丽 责任编辑 单冉东 封面设计 张楠 责任印制 尤静

出版发行 高等教育出版社
社址 北京市西城区德外大街4号
邮政编码 100120
印刷 北京市昌平百善印刷厂
开本 850mm×1168mm 1/16
印张 13
字数 300千字
购书热线 010-58581118

咨询电话 400-810-0598
网址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.landaco.com>
<http://www.landaco.com.cn>
版次 2015年8月第1版
印次 2015年8月第1次印刷
定价 26.00元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换
版权所有 侵权必究
物料号 42729-00

iCourse·数字课程(基础版)

动物生物化学 实验技术教程

主编 李庆章

<http://abook.hep.com.cn/42729>

登录方法:

1. 访问<http://abook.hep.com.cn/42729>, 点击页面右侧的“注册”。已注册的用户直接输入用户名和密码, 点击“进入课程”。
2. 点击页面右上方“充值”, 正确输入教材封底的明码和密码, 进行课程充值。
3. 已充值的数字课程会显示在“我的课程”列表中, 选择本课程并点击“进入课程”即可进行学习。

自充值之日起一年内为本数字课程的有效期
使用本数字课程如有任何问题

请发邮件至: lifescience@pub.hep.cn



iCourse·教材
高等农林院校基础课程系列



自主创新
方法先行

动物生物化学实验技术教程

主编 李庆章

用户名

密码

验证码

3064

进入课程

内容介绍

纸质教材

版权信息

联系方式

相关教材

“动物生物化学实验技术教程”数字课程与纸质教材一体化设计, 紧密配合。数字课程包括教学课件、拓展学习、经典文献、讲解录像、实验结果、习题及参考答案等多种资源类型, 丰富知识呈现形式, 以此辅助学生拓展知识、规范操作, 引导学生自主学习, 掌握相关技能点和知识点。



农业生态学

林文雄 陈雨海



普通遗传学实验

张祖新 严长杰



生物统计与试验设计

徐辰武 章元明

高等教育出版社

数字资源 先睹为快



实验结果



拓展学习



教学课件

出版说明

“十二五”是继续深化高等教育教学改革、走以提高质量为核心的内涵式发展道路和农林教育综合改革深入推进的关键时期。教育教学改革的核心是课程建设，课程建设水平对教学质量和人才培养质量具有重要影响。2011年10月12日教育部发布了《教育部关于国家精品开放课程建设的实施意见》(教高〔2011〕8号)，开启了信息技术和网络技术条件下校、省、国家三级精品开放课程建设的序幕。作为国家精品开放课程展示、运行和管理平台的“爱课程(iCourse)”网站也逐渐为高校师生和社会公众认知和使用。截至目前，已启动2911门精品资源共享课和696门精品视频公开课的立项建设，其中的1000多门精品资源共享课和600多门精品视频公开课已经在“爱课程(iCourse)”网站上线。

高等教育出版社承担着“‘十二五’本科教学工程”中国国家精品开放课程建设的组织实施和平台建设运营的重要任务，在与广大高校，特别是高等农林院校的调研和协作中，我们了解到当前高校的教与学发生了深刻变化，也真切感受到课程和教材建设所面临的挑战和机遇。如何建设支撑学生自主学习与校际共建共享的课程和新形态教材成为现实课题，结合我社2009年以来在数字课程建设上的探索和实践，我们提出了“高等农林院校基础课程精品资源共享课及系列教材”建设项目，并获批列入科技部“科学思维、科学方法在高等学校教学创新中的应用与实践”项目(项目编号：2009IM010400)。项目建设理念得到了众多农林高校的积极响应，并于2012年12月—2013年6月，分别在北京、扬州、武汉、哈尔滨、福建等地陆续召开了项目启动会议、研讨会和编写会议。2014年，项目成果“iCourse·教材：高等农林院校基础课程系列”陆续出版。

本系列教材涵盖数学、物理、化学化工、计算机、生物学等系列基础课程，在出版形式、编写理念、内容选取和体系编排上有不少独到之处，具体体现在以下几个方面：

1. 采用“纸质教材+数字课程”的出版形式。纸质教材与丰富的数字教学资源一体化设计，纸质教材内容精炼适当，并以新颖的版式设计和内容编排，方便学生学习和使用；数字课程对纸质教材内容起到巩固、补充和拓展作用，形成以纸质教材为核心，数字教学资源配合的综合知识体系。
2. 创新教学理念，引导自主学习。通过适当的教学设计，鼓励学生拓展知识面和针对某些重要问题进行深入探讨，增强其独立获取知识的意识和能力，为满足学生自主学习和教师教学方法的创新提供支撑。
3. 强调基础课程内容与农林学科的紧密联系，始终抓住学生应用能力培养这一重要环节。教材和数字课程中精选了大量有实际应用背景的案例和习题，在概念引入和知识点讲授上也总是从实际问题出发，这不仅有助于提高学生基础课程的兴趣，也有助于加强他们的创新意识和创新能力。

4. 教材建设与资源共享课建设紧密结合。本系列教材是对各校精品资源共享课和教学改革成果的集成和升华,通过参与院校共建共享课程资源,更可支持各级精品资源共享课的持续建设。

建设切实满足高等农林教育教学需求、反映教改成果和学科发展、纸质出版与资源共享课紧密结合的新形态教材和优质教学资源,实现“校际联合共建,课程协同共享”是我们的宗旨和目标。将课程建设及教材出版紧密结合,采用“纸质教材+数字课程”的出版形式,是一种行之有效的方法和创新,得到了高校师生的高度认可。尽管我们在出版本系列教材的工作中力求尽善尽美,但难免存在不足和遗憾,恳请广大专家、教师和学生提出宝贵意见与建议。

高等教育出版社

2014年7月

前 言

《动物生物化学实验技术教程》是充分考量动物生物化学实验技术的独立性和特殊性，与《动物生物化学》(李庆章主编，高等教育出版社)互相配套又相对独立的实验技术教材。本教材的编写，旨在通过技术理论与技术操作的学习，使学生获得系统的动物生物化学技术理论知识与实验操作技能，培养学生能动的创新思维和扎实的实践能力。

本教科书力求简洁并全面阐明现代动物生物化学实验技术理论和体现基本操作技能训练。依据动物生物化学实验课时，针对现代生物化学实验技术在动物科学研究与动物生产实践中的应用需求，全面扼要地阐述动物生物化学实验技术的基本理论、基本知识；针对动物生物化学理论课程设置的内容、动物生物化学实验技术发展的现状和趋势、动物生物化学实验技术同其他专业课程的联系，多方面设计实验技术操作。不同学校可根据自己的实际情况选做部分基础验证性实验技术和综合提高性实验技术，也可将有关实验技术衔接起来形成研究创新性实验技术。本书采用了“纸质教材+数字课程”的出版形式，根据动物生物化学实验的课程体系，在数字课程中配套设计了辅教类、辅学类和拓展类三大类学习资源，内容包括拓展学习、教学课件、经典文献、讲解录像、习题与参考答案等模块。针对第三章、第四章的实验项目，特别编写了相关的实验原理、技术原理等数字课程内容。在此建议各校教师根据教学目标和学时，引导学生自主学习数字资源，提高学习效率。

本书编写分工为：李庆章编写绪论、实验操作常识、研究创新性动物生物化学实验技术一章中动物生物化学研究的创新设计理论部分；刘建昌编写滴定分析、光谱技术、实验 3-1~3-11；苏建明编写酶活性及酶动力学参数测定、实验 3-12~3-17；汉丽梅编写一般制备技术、一般分离技术，以及实验 4-2、4-3、4-5、4-6；张莉编写电泳技术、附录，以及实验 4-8、4-12~4-15、5-1~5-3；刘国权编写色谱技术，以及实验 4-1、4-4、4-7、4-9~4-11；刘霞编写分子扩增和分子杂交技术，以及实验 4-16~4-25。初稿完成后，由主编和副主编分头审阅部分书稿，最后由李庆章审定全部书稿，张莉分担书稿审阅、审定过程中的所有联系、传送和图表优化等工作。

《动物生物化学实验技术教程》的编写得到东北农业大学教材建设基金的支持，同时得到东北农业大学、湖南农业大学、甘肃农业大学、华中农业大学、沈阳农业大学和福建农林大学的关怀和帮助，在此一并致谢。

编 者

2015 年 1 月

目 录

第一章 绪论	001
第二章 实验操作常识	007
第三章 基础验证性动物生物化学实验技术	024
实验 3-1 常用实验样品的收集制备	025
实验 3-2 血糖的测定	031
实验 3-3 血液非蛋白氮的测定	036
实验 3-4 血清总脂的测定	039
实验 3-5 脂肪酸的 β -氧化	042
实验 3-6 血清总胆固醇的测定	045
实验 3-7 维生素 C 含量测定	047
实验 3-8 紫外吸收法测定核酸含量	050
实验 3-9 二苯胺显色法测定 DNA 含量	053
实验 3-10 地衣酚显色法测定 RNA 含量	055
实验 3-11 血清钠、钾、钙和无机磷的测定	057
实验 3-12 唾液淀粉酶活性观察	064
实验 3-13 血清谷丙转氨酶活性的测定(赖氏法)	068
实验 3-14 过氧化氢酶及过氧化物酶的作用	072
实验 3-15 琥珀酸脱氢酶的作用及其竞争性抑制的观察	074
实验 3-16 碱性磷酸酶活性及比活性测定	077
实验 3-17 碱性磷酸酶反应动力学参数(K_m 值)的测定	080
第四章 综合提高性动物生物化学实验技术	084
实验 4-1 类胡萝卜素的分离与测定	085
实验 4-2 维生素 B ₁ 的提取与含量测定	087
实验 4-3 肝糖原的提取及鉴定	090
实验 4-4 脂质化合物的提取和薄层色谱分离	092
实验 4-5 细胞色素 C 的制备及含量测定	095
实验 4-6 牛乳中蛋白质的提取与鉴定	099
实验 4-7 卵清蛋白的提取和纯化	102

实验 4-8	血清蛋白质的醋酸纤维素薄膜电泳分离	106
实验 4-9	血清 γ - 球蛋白的提取与含量测定	109
实验 4-10	血清 γ - 球蛋白的柱色谱纯化	112
实验 4-11	纸色谱鉴定酶促转氨基反应	116
实验 4-12	超氧化物歧化酶的制备	119
实验 4-13	超氧化物歧化酶的活性测定	122
实验 4-14	等电聚焦电泳测定超氧化物歧化酶的等电点	124
实验 4-15	SDS- 聚丙烯酰胺凝胶电泳测定 SOD 的相对分子质量	127
实验 4-16	动物组织中 DNA 的提取及鉴定	131
实验 4-17	质粒 DNA 的制备及纯化	134
实验 4-18	质粒 DNA 的酶切与琼脂糖电泳鉴定	136
实验 4-19	从琼脂糖凝胶中分离回收 DNA 片段	139
实验 4-20	DNA 片段的连接	142
实验 4-21	用重组质粒 DNA 转化大肠杆菌	144
实验 4-22	聚合酶链式反应	146
实验 4-23	Southern 印迹分析	149
实验 4-24	Northern 印迹分析	153
实验 4-25	Western 印迹分析	156
第五章	研究创新性动物生物化学实验技术	159
实验 5-1	超氧化物歧化酶的分离纯化和同工酶分析	167
实验 5-2	利用 PCR 差异显示 mRNA	170
实验 5-3	研究创新性动物生物化学实验技术的适时系统训练	174
主要参考文献		176
附录 1	化学试剂的分级及配制的注意事项	177
附录 2	实验室常用酸碱的参数	179
附录 3	常用洗涤液的配制	180
附录 4	常用缓冲溶液的配方	182
附录 5	硫酸铵饱和度常用表	188
附录 6	色谱技术常用数据	191
附录 7	常用蛋白质和核酸相对分子质量标准	194
附录 8	离心机转数与相对离心力的换算	195

第一章 绪论

第一节 动物生物化学实验技术

动物生物化学实验技术 (experimental technique of animal biochemistry) 是基于物理、化学原理, 从分子水平上研究动物有机体的化学本质及生命活动过程中化学变化规律的各种分离、分析实验技术和方法。

动物生物化学实验技术是人类探索生命科学的有力武器, 也是生命科学的知识结晶。动物生物化学 (animal biochemistry) 由实验技术体系与理论体系一道构成, 展现了广阔前景和深厚魅力。

动物生物化学实验技术既是动物生物化学形成与发展的动力, 也是动物生物化学完整系统的重要组成部分, 两者相辅相成, 相得益彰。动物生物化学的发展, 很大程度上得益于动物生物化学实验技术的不断创新和新设备、新仪器的层出不穷, 而动物生物化学实验技术的推陈出新, 则又与动物生物化学的内在发展对新技术、新方法的迫切需求密切相关。动物生物化学实验技术的理论复杂性和技能专业性, 使得动物生物化学实验技术自成体系, 并成为分子生物学、分子生理学、分子药理学、分子病理学、分子免疫学实验技术的重要内容, 充分发挥了生物化学实验技术在生命科学研究中的基础地位和先导作用。

第二节 动物生物化学实验技术发展简史

动物生物化学是在有机化学和生物学基础上发展起来一门边缘科学, 19世纪中期称为“生理化学”。动物生物化学实验技术的进步, 也同样和有机化学实验技术与生物学实验技术的融合发展密切相关。诺贝尔生理学或医学奖和诺贝尔化学奖中, 实验技术奖励占据重要地位, 足以说明实验技术在科学进步与发展中的极端重要性。动物生物化学实验技术的构成, 除去通用的一般分离技术外, 主要包括专用的离心技术、电泳技术、色谱技术和光谱技术 (四大基本技术), 以及分子生物学现代基因工程技术。

中国是世界上文明和发达最早的国家, 在动物生物化学实验技术方面也不例外。北宋沈括 (1031—1095) 所著《良方》卷一中, 记有“秋石阴炼法”, 采用皂角汁沉淀, 以及过滤、升华等一系列化学和物理方法从人尿中提取出相当纯净的性激素制剂——秋石, 并应用于医疗实践。

我国生物化学界的先驱吴宪教授 (1893—1959), 1917年进入哈佛大学医学院生物化学系跟随著名生物化学家 Otto Folin (1867—1934) 教授研究血液化学。1919年

以《一种血液分析系统》(A System of Blood Analysis)获博士学位。他与 Otto Folin 一同提出的血液分析系统方法为现代临床血液化学分析提供了重要的分析手段,具有历史性创新意义,在国际上长时间被广泛采用。其中关于血糖测定的方法被国际上沿用长达 70 年,为此他被誉为国际血液分析的权威。在 20 世纪 20 年代以前,检测血中的非蛋白氮组分对病人来说是个沉重的负担,仅 1 次尿酸测定就需耗血 25 mL。而 Folin- 吴的新方法只需 10 mL 就足以进行包括尿素、肌酸、肌酸酐、尿酸和糖的测定(其中只需 1 滴血就能测定血糖)。1919 年吴宪获得博士学位后,又跟随 Otto Folin 做了 1 年的博士后研究。期间他独自完成了血糖定量分析的改进方法,大大推进了后来胰岛素的发现。除了血液外,他还对尿、唾液和脑脊液持续进行了多年的分析和探讨。

进入现代以来,中国的生物化学研究获得快速发展。1958 年,经国务院批准成立中国科学院上海生物化学研究所,人工合成牛胰岛素的课题于此时开始并吸引了全所的主要研究力量。1960 年天然胰岛素 A、B 两链拆分与重组获重大突破。1964 年牛胰岛素 B 链合成告捷,与天然 A 链组成的人工半合成产品获得结晶,晶形及活力与天然胰岛素相同。同年底中国科学院上海有机化学研究所与北京大学合作的 A 链合成亦告成功,与天然 B 链组成的半合成产物同样完成。1965 年,人工全合成牛胰岛素宣告成功。1967 年由中国科学院上海生物化学研究所、上海有机化学研究所、生物物理研究所与北京大学生物系等协作开始了酵母丙氨酰转移核糖核酸(tRNA^{Ala})的人工合成,1981 年胜利完成,在国际上首次采用人工方法合成了具有天然转移核糖核酸(tRNA)相同活性的产物,使我国的 RNA 合成水平跃居世界先进行列。改革开放以来,我国生物化学研究日益广泛和深入,在蛋白质、活性多肽、核酸、酶、生物膜、分子识别、甾体激素、基因工程、肿瘤生化等方面进行了广泛研究,并取得了可喜进展。

在国际上,技术科学化和技术商业化极大地推动了动物生物化学实验技术的迅猛发展。以离心技术、电泳技术、色谱技术、光谱技术为标志的生物化学四大基本实验技术和以现代基因工程技术为标志的分子生物学实验技术可基本勾勒出动物生物化学实验技术的历史发展全貌。

离心技术 (centrifugal technique) 方面,在常速离心技术的基础上,瑞典著名的化学家 Svedberg 发明了“超速离心技术”,1924 年制成了第一台 5 000 g (5 000 ~ 8 000 r/min) 相对离心力 (relative centrifugal force, RCF; RCF 的单位可表示为“g”,即重力加速度)的超速离心机,开创了动物生物化学物质离心分离的先河,并准确测定了血红蛋白等复杂蛋白质的相对分子质量,获得了 1926 年的诺贝尔化学奖。1948 年,Hoagland、Schneider 和 Palade 将差速离心法成功地应用于细胞的分级分离。

电泳技术 (electrophoretic technique) 方面,由瑞典的著名科学家 Tiselius 所奠基,从而开创了电泳技术的新时代,他因此获得了 1948 年的诺贝尔化学奖。1969 年 Weber 应用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳技术测定了蛋白质的相对分子质量,使电泳技术取得了重大进展。1981 年由 Jorgenson 和 Lukacs 首先提出的**高效毛细管电泳技术**

(high performance capillary electrophoresis, HPCE), 由于其高效、快速、经济, 尤其适用于生物大分子的分析, 因此受到生命科学、医学、化学等学科科学工作者的极大重视, 发展极为迅速, 是动物生物化学实验技术和仪器分析领域的重大突破。现今, 由于 HPCE 技术的异军突起, HPCE 技术的发展重点已转到制备和下游技术。

色谱技术 (chromatographic technique) 方面, 色谱技术又称为层析技术 (chromatographic technique)。1941—1944 年, Martin 和 Synge 发展了分配色谱 (partition chromatography), 将其用于氨基酸分析。由此, 色谱技术成为分离动物生物化学物质的关键技术。他们因此获得了 1952 年的诺贝尔化学奖。1949 年, Stein 和 Moore 报告了用淀粉柱区带色谱 (zone chromatography) 测定 β -乳球蛋白的全部氨基酸组成。1968—1972 年, Anfinsen 建立了亲和色谱 (affinity chromatography) 技术, 从而使色谱分离的特异性和有效性大大提高。

光谱技术 (spectroscopic technique) 方面, 1943 年 Chance 首次将灵敏的分光光度法用于酶-底物反应相互关系的研究。20 世纪 60 年代, 各种光谱分析方法用于动物生物化学研究, 如红外、紫外、圆二色等光谱技术取得了很大的发展。1954 年, Chance 和 Williams 用氧电极及差光谱法研究线粒体中电子传递的动力学。1958 年, Stem、Moore 和 Spackman 设计出氨基酸自动分析仪, 加速了蛋白质的分析工作。1967 年, Edman 和 Begg 发明多肽氨基酸序列分析仪。1973 年, Moore 和 Stein 设计出氨基酸序列自动测定仪, 大大加快了多肽一级结构的测定。随着光谱分析仪器的更新换代, 色谱技术和光谱技术 (气-质、液-质) 的联用, 及大地推动了动物生物化学分离、分析实验技术的微量化和标准化, 体现了现代分析仪器的实时性和高效性。

基因工程技术 (gene engineering technique) 在 20 世纪 70 年代取得了突破性进展, Arber、Smith 和 Nathans 3 个研究小组发现并纯化了限制性内切酶。1972 年, 美国斯坦福大学的 Berg 等人首次用限制性内切酶切割了 DNA 分子, 并实现了 DNA 分子的重组。1973 年, 又由美国斯坦福大学的 Cohen 等人第一次完成了 DNA 重组体的转化技术, 这一年被定为基因工程的诞生年, Cohen 成为基因工程的创始人, 从此生物化学进入了一个新的大发展时期。与此同时, 各种仪器分析手段进一步发展, 如成功研制了 DNA 序列测定仪、DNA 合成仪等。20 世纪 80 至 90 年代, 基因工程技术进入辉煌发展的时期。1980 年, 英国剑桥大学的生物化学家 Sanger 和美国哈佛大学的 Gilbert 分别设计出 2 种测定 DNA 分子核苷酸序列的方法, 而与 Berg 共获该年度的诺贝尔化学奖, 从此 DNA 序列分析法成为生物化学与分子生物学最重要的研究手段之一。

除去以上动物生物化学四大基本实验技术和分子生物学现代基因工程技术, 还有电子显微技术、同位素失踪技术、X 射线衍射技术、原位杂交技术、核磁共振技术、单分子分析技术等都是动物生物化学实验技术百花园中竞相开放的璀璨花朵。特别是各种模式生物 (线虫、果蝇、斑马鱼等) 实验室的建立, 为动物生物化学实验技术的充分利用和展示提供了前所未有的优越条件。

由动物生物化学实验技术的发展简史可以看出, 动物生物化学的发展与动物生物化学实验技术的发展密切相关。每一种新的动物生物化学物质的发现与研究都离不开

动物生物化学实验技术，动物生物化学实验技术每一次新的发明都大大推动了动物生物化学研究的进展。因而，对于每一位现代生物科学工作者，尤其是动物生物化学工作者，学习并掌握各种动物生物化学实验技术极为重要。

第三节 实验的目的和内容

一、动物生物化学实验技术课程的目的

动物生物化学实验技术在动物医学、动物药学、动物科学、水产养殖等领域的广泛应用，对我国高等农业院校动物生物化学实验技术课程的教学提出了更高的要求。动物生物化学实验技术课程旨在通过动物生物化学实验技术理论的学习和实验技术的操作，深化学生对动物生物化学基本理论、基本知识的理解，使学生正确和熟练掌握动物生物化学实验技术的基本原理和操作技能，培养学生严谨求实的科学态度和发挥学生“生动、活泼、主动”学习的能动作用，奠定学生日后从事一般生产研究和科学研究以解决实际问题的基本能力和基本素质。

二、动物生物化学实验技术课程的内容

动物生物化学实验技术课程的内容包括：以动物生物化学和分子生物学实验技术（滴定技术、光谱技术、分离技术、色谱技术、电泳技术、分子扩增与杂交技术等）为经线，以实验研究对象（生物小分子和生物大分子，如生物元素、维生素、糖、脂、蛋白质、酶、核酸等）为纬线，以实验研究能力和实验研究素质培养的梯次要求为网点，构建动物生物化学实验技术训练网络。按照实践教学改革的原则和要求，将动物生物化学实验技术分为基础验证性动物生物化学实验技术、综合提高性动物生物化学实验技术和研究创新性动物生物化学实验技术，每类动物生物化学实验技术安排不同实验技术操作训练若干。各有关学校有关专业可根据本校的实际教学计划和教学条件，因地制宜地开展动物生物化学实验技术教学。

第四节 实验的基本要求

一、基础验证性动物生物化学实验技术

（一）实验特点

基础验证性动物生物化学实验技术是指采用基本的动物生物化学实验技术（滴定技术、光谱技术等），为培养学生的动物生物化学基本实验技能而进行的一般性动物生物化学实验技术训练。

（二）基本要求

通过基础验证性动物生物化学实验技术理论学习与实验技术操作训练：①学习运

用动物生物化学基本理论、基本知识(科学假设)的验证方法,实现对有关理论和知识(科学假设)的强理解解和记忆(求证);②学习运用分析化学技术与方法,从混合物中定性显示并定量测定某一生物结构物质和生物功能物质;③学习运用动力学分析方法,测定解析某一生物功能物质的特征性物理参数。

(三) 主要说明

基础验证性动物生物化学实验技术因为其准备方便和学习容易的特点,对多数学校而言都可以实施,因此是动物生物化学实验技术训练的基本内容。各学校可从本校教学计划和教学条件的实际出发,因地制宜和量力而行。

二、综合提高性动物生物化学实验技术

(一) 实验特点

综合提高性动物生物化学实验技术是指采用多种主要的动物生物化学实验技术(分离技术、色谱技术、电泳技术等)和重要的分子生物学实验技术(PCR技术、分子杂交与印迹技术、分子克隆技术、外源基因转移技术、蛋白质表达技术、组学技术、生物信息学技术等),为培养学生的动物生物化学主要实验技能而进行的综合性动物生物化学实验技术训练。

(二) 基本要求

通过综合提高性动物生物化学实验技术理论学习与实验技术操作训练:①学习运用主要动物生物化学实验技术,分离制备或生物合成特定生物分子和生物大分子;②学习运用特异性分析技术与方法,对某一分离制备物质或生物合成物质进行定位、定性和定量检测;③学习运用特殊实验技术与方法,对某一分离制备物质或生物合成物质进行结构与功能(或代谢)研究。

(三) 主要说明

综合提高性动物生物化学实验技术因为其准备繁琐和学习深化等特点,对多数学校而言经过努力也可以实施,因此是动物生物化学实验技术训练的重要内容。各学校可从改善教学条件和提高教学水平的需要出发,积极争取增加教学的基本投入,确实保证综合提高性动物生物化学实验技术训练。

三、研究创新性动物生物化学实验技术

(一) 实验特点

研究创新性动物生物化学实验技术是指综合采用主要的动物生物化学实验技术和重要的分子生物学实验技术,为培养学生的动物生物化学研究设计、组织实施能力而进行的创新性动物生物化学实验技术训练。

(二) 基本要求

通过研究创新性动物生物化学实验技术理论学习与实验技术操作训练:①学习运用社会(生产)调查法和文献调查法,密切结合生产实际需求和科学发展需要进行研究创新性动物生物化学研究选题;②学习运用科学假设和科学问题方法,提出科学假

设和科学问题并进行实验方案设计；③学习运用综合性动物生物化学实验技术和分子生物学实验技术，解析提出的科学假设和科学问题。

（三）主要说明

研究创新性动物生物化学实验技术因为其准备复杂和学习创新的特点，对某些持续开展综合提高性动物生物化学实验技术的学校而言都可以实施，因此是动物生物化学实验技术训练的重要内容。有关学校可从开展大学生科技创新活动和培养创新型人才的前瞻出发，结合教学团队科学研究的实际条件积极开设研究创新性动物生物化学实验技术训练。

思考题

1. 简述动物生物化学实验技术的涵义。
2. 动物生物化学基本实验技术有哪些？
3. 试举例说明动物生物化学四大基本实验技术的重要发明者。
4. 试述动物生物化学实验技术课程的目的。
5. 何谓基础验证性动物生物化学实验技术、综合提高性动物生物化学实验技术、研究创新性动物生物化学实验技术？

④ 参考答案

第二章 实验操作常识

第一节 实验的基本操作

一、玻璃器皿的清洗

实验过程中使用的玻璃器皿清洁与否,直接影响实验结果。由于玻璃器皿的不清洁或被污染,而造成较大的实验误差,甚至会出现相反的实验结果。因此,玻璃器皿的清洗工作非常重要。

(一) 常用玻璃器皿的分类

1. 一般玻璃器皿

一般玻璃器皿指的是无刻度的玻璃器皿(如普通试管、试剂瓶等),或无精确刻度的玻璃器皿(如烧杯、三角烧瓶、量筒、刻度试管等)。一般玻璃器皿即使有刻度也不精确,只能用于液体的溶解、稀释、盛放、转移或大体量取。

2. 分析玻璃器皿

分析玻璃器皿有精确刻度,可精确量取液体,如吸量管、滴定管、容量瓶等。

3. 特殊玻璃器皿

特殊玻璃器皿指在固定试验仪器中使用的玻璃仪器,如比色皿,是在分光光度计中使用的玻璃器皿。

(二) 玻璃器皿的洗涤方法

1. 初用玻璃器皿的清洗

新购置的玻璃器皿表面常附着有游离的碱性物质,可先用肥皂水(液体肥皂)洗刷,再用流水冲洗干净,然后浸泡于1%~2%盐酸中过夜(不少于4h),取出后再用流水冲洗,最后用蒸馏水冲洗2~3次,在100~300℃干燥箱中烤干或自然晾干,备用。

2. 曾用玻璃器皿的洗涤

(1) 一般玻璃器皿

先用毛刷蘸取少量的洗涤剂如洗衣粉刷洗或浸入肥皂水内,将玻璃器皿内外(特别是内壁)细心洗刷,用流水冲洗干净,再用蒸馏水少量多次冲洗(一般实验要求3次)。凡洗净的玻璃器皿,器壁上不再挂有水珠,否则表示尚未洗净,应再按照上述方法重新洗涤。若发现内壁有难以去掉的污渍,则应分别试用下述各种洗涤剂予以清除,然后再重新清洗。

(2) 分析玻璃器皿

带刻度的分析玻璃器皿,使用后应立即浸泡于冷水中,勿使过度干涸,否则导致

难以清洗。工作完毕用流水冲洗，以除去附着的试剂、蛋白质等物质。晾干后浸泡在铬酸洗液中 4~6 h（或过夜），再用流水充分冲洗，最后用蒸馏水冲洗 2~4 次，风干备用。分析玻璃器皿不能用毛刷或去污粉（内含摩擦剂）刷洗，因摩擦会产生划痕，使读数困难，或藏污纳垢。

（3）特殊玻璃器皿

特殊玻璃仪器皿（如比色皿）的清洗，一般是既不能用毛刷或去污粉刷洗，也不能用洗液浸泡。如果用毛刷或去污粉刷洗，将使光滑面变得粗糙，影响光的透射。再如果用强酸、强氧化性洗液浸泡，则容易使比色皿黏合部开裂。对于特殊玻璃器皿的清洗，一般采用立即倒掉器皿内溶液，流水即时冲洗。如果还有污物附着，应根据污物的特殊性质进一步选择清洗方式（如有机溶剂、稀盐酸等），进行短时间浸泡清洗。

（三）清洗液的种类与配制

参见附录 3 各种洗涤液的配制。

（四）玻璃器皿的干燥

一般采用晾干和烘干 2 种方法。晾干是利用重力作用和空气对流带走水份，因此比较慢，但其优点是适用范围广。而烘干原则上对分析玻璃器皿禁用，由于热胀冷缩，对分析玻璃器皿容积的准确性有影响。但在实际操作中，对准确度要求不高的一般玻璃器皿，也会将其置于烘箱中（40~50℃）进行烘干。烤干试管时，应将管口向下倾斜约成 45° 角，由上往下，先烤管底，最后将管口的水分烤干。烤干时须经常移动以免炸裂，烘干后应降至室温使用。

二、吸量管的种类和使用

（一）吸量管的种类

吸量管主要有奥氏吸量管、移液管和刻度吸量管 3 种（图 1-1）。

1. 奥氏吸量管

管身有一橄榄球形的膨大，在各种类型同一容量的吸量管中其内表面积最小，因此该吸量管内壁黏附的液体也最少，所以准确性高。吸量管上只有一个刻度，供准确量取 0.5 mL、1 mL、2 mL 液体时用。放液时必须吹出残留在吸量管尖端的液体，主要用于量取黏滞系数大的液体。

2. 移液管

中部膨大呈柱状。每根吸量管上只有一个刻度，供准确量取 5 mL、10 mL、25 mL、50 mL 等较大体积液体时用。放出液体后，将吸量管尖端在容器内壁上继续停留 15 s，注意不要吹出吸量管尖端最后的残留部分液体。

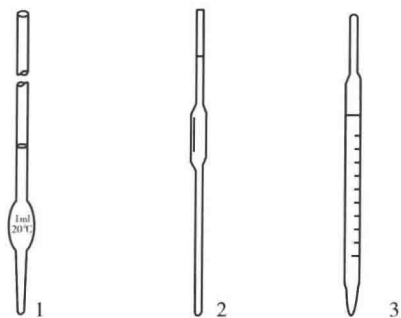


图 1-1 吸量管的种类

1. 奥氏吸量管；2. 移液管；3. 刻度吸量管