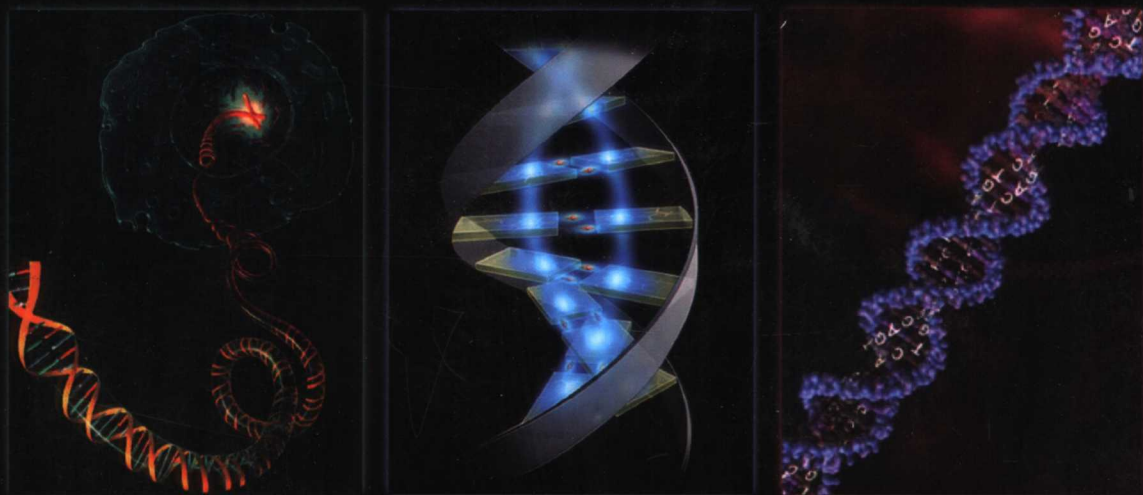


现代分子生物学 实验手册

(第二版)

张维铭 主编



科学出版社

www.sciencep.com

内 容 简 介

21 世纪是以生命科学为主导的时代,生命科学是一门以实验为基础的学科,越来越多的生命科学工作者,特别是医学工作者认识到,从基因水平上认识生命现象,解释、诊断和治疗疾病,可能会给人类认识自身的各种生命活动带来突破。要做到这一点就必须从实验室的点滴做起。

本书从基础的也是最重要的实验器具使用、操作及相关设备的主要原理开始,直到当前最为前沿的研究方法、手段,均有较为详细的介绍。它汇集了作者多年来从事基础医学研究的实践经验和在国外实验室工作的亲身体会,同时参阅了大量文献和有关论著,是一本系统的、理论与应用并重的实验参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

现代分子生物学实验手册/张维铭主编. —2版. —北京:科学出版社, 2007

ISBN 978-7-03-018868-7

I. 现… II. 张… III. 分子生物学-实验-手册 IV. Q7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 055258 号

责任编辑:沈红芬 陈欣 康蕾 / 责任校对:宋玲玲

责任印制:刘士平 / 封面设计:黄超

版权所有,违者必究。未经本社同意,数字图书馆不得使用

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>

新登印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2003 年 6 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2007 年 5 月第 二 版 印张:35

2007 年 5 月第四次印刷 字数:830 000

印数:7 001—10 000

定价:58.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

《现代分子生物学实验手册》(第二版)
编写人员

主 编 张维铭

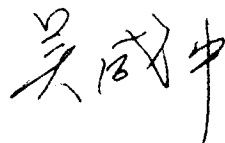
编 者 (按姓氏笔画排序)

邢 军 刘文天 李艳芸 张文治

张维铭 徐 焱 耿 鑫

第二版序

在华夏英才基金委员会的支持下,由张维铭教授等编写的《现代分子生物学实验手册》于2003年6月由科学出版社出版后受到了广大读者的好评,并多次重印。由于分子生物学研究进展迅速,读者的需求不断提高,因此,编者在对已有版本仔细审阅的基础上对其做了必要的修订,根据近年生命科学研究的进展,又增加了RNA干扰、肿瘤干细胞的培养和鉴别,以及蛋白质组学的相关理论、实验技术等章节。再版的《现代分子生物学实验手册》内容更加丰富,可读性更强,相信对医学院校本科生、研究生,以及基础和临床的相关研究人员均有更高的参考价值。本人非常高兴看到此书的再版!



中国工程院院士
天津医科大学教授
2006年11月

第一版序

在华夏英才基金委员会的支持下,由张维铭教授等编写的《现代分子生物学实验手册》即将出版发行。从此书的命名就可以看出,这是一部以分子生物学实验技术为主要内容的参考书或工具书。贵在简明,重在实用。

随着生物技术(biological technology, BT)在医学基础研究、疾病诊断与临床治疗中的广泛应用,掌握分子生物学相关知识与某些实验技术,已经成为广大医学研究人员的迫切要求。本书正是为了适应这种要求而编写的。从编写指导思想与全书内容来看,本书有以下三个特点:

一是简明扼要,除用三章简述实验室设置、核酸的基本理论与生物信息学外,其余九章分别介绍了九类分子生物学实验技术,覆盖面广,实用性强。

二是文风朴实,不尚空谈,层次分明地介绍了操作步骤或实验流程,便于学习,易于掌握。

三是编著者们在十多年来科研与教学实践的基础上,参阅了大量的相关论著和文献写成本书,既有他人的成熟方法,也有自己积累的经验,应有很高的可重复性。

本书对医药院校本科生、研究生,以及基础科室和临床的实验研究人员均有参考价值。

感谢编著者们为此书所付出的辛勤劳动,愿将此书推荐给广大读者。

吴咸中

中国工程院院士

天津医科大学教授

2003年2月

第二版前言

此书的第一版自 2003 年出版以来,受到了广大读者的欢迎,多次重印。应读者的要求,以及学科发展的需要,我们对此书进行了修改及补充,予以再版。

再版书由原来的十二章增至十四章。其中,第十三章为蛋白质组学相关技术。随着后基因组计划的启动,当今的研究热点已从基因组学的基础转移到蛋白质的表达与功能研究。我们针对这种发展趋势,介绍了生物样品中蛋白质的提取、分离及鉴定方法,以及在此基础上发展起来的相关技术。第十四章主要介绍了细胞培养的基本要求及注意事项,重点介绍了肿瘤细胞及干细胞的培养、分离、鉴定等技术,以满足对肿瘤进行深入研究及再生医学发展的需要。该章由天津市环湖医院(天津市脑系科中心医院)张文治研究员加盟执笔完成。此外,第十一章增加了小干扰 RNA 一节,第十二章中增加了蛋白质组数据库分析及相关研究实例。这些内容的增补,在一定程度上反映了当前本领域新技术方法的前沿进展,更满足了读者的需求。我们殷切希望此书能为从事生命科学学习和研究的青年科技工作者及同行学者提供一定的参考作用。

再版过程中,张银柱、李燕妮、王玉川等投入了大量精力做资料整理、文字和图表的核对修正、电子版本的制作及部分内容的编写等烦琐的工作,再版书的顺利完成与他们的辛勤劳动是分不开的。在此一并表示衷心的感谢。

书中一定还有一些不足之处,诚恳地欢迎广大读者批评指正。

张维铭
天津医科大学
2006 年 11 月

第一版前言

生命科学是 21 世纪学科发展的主流,其中,对医学分子生物学的研究使人们从分子水平上逐渐认识到生命现象的本质。而相关的实验是所有研究过程中重要的途径和手段。为此,对实验技术的了解和掌握是学科应用和发展的重要环节之一。

随着分子生物学的发展,原有的研究方法、技术不断改进,新的技术、仪器设备不断出现。在总结自己近年来研究和教学经验的基础上,又受到国内外高水平分子生物学实验室工作的启迪,通过编写小组的努力完成了此书。编写过程中,我们力求理论与实践结合、重点突出及各部分之间的系统性,同时也尽量吸纳相关实验技术的最新进展,祈望能给读者一个分子生物学实验的完整概念。

参加本书编写工作的青年学者中有已毕业的博士、硕士研究生,也有正在攻读学业的博士、硕士研究生。对他(她)们所付出的辛勤努力在此表示深深的谢意。

更应该感谢的是中共中央统战部和华夏英才基金委员会对本书的编写和出版给予的鼎力支持和亲切关怀,中共天津市委教育卫生工作委员会、统战处及中共天津医科大学委员会、统战部的各级领导自始至终对本书的编写给予了具体的帮助和热情的支持。编写小组在此表示诚挚的感谢。

希望本书的出版能对同行学者及研究生的学习小有裨益。

书中的错误及不足在所难免,欢迎批评指正。

张维铭
天津医科大学
2003 年 2 月

目 录

第二版序	(i)	二、危险化学试剂及防护	(29)
第一版序	(ii)	三、生物安全防护	(30)
第二版前言	(iii)	第二章 核酸的基础理论	(31)
第一版前言	(iv)	第一节 核酸	(31)
第一章 基础篇	(1)	一、核酸的组成与结构	(31)
第一节 分子生物学实验室常用基本 器具	(1)	二、核酸的理化特性	(36)
一、常用基本器具	(1)	三、核酸的光谱学	(38)
二、常用器具的材料	(5)	四、核酸的降解与合成	(39)
第二节 通用实验设备及其使用方法	(8)	第二节 基因与染色体	(41)
一、天平	(8)	一、基因	(41)
二、pH 计	(10)	二、染色体	(46)
三、分光光度计	(10)	第三节 细胞分裂周期	(51)
四、微量移液器	(11)	一、有丝分裂	(51)
五、离心机	(13)	二、减数分裂	(53)
六、恒温箱	(15)	第四节 遗传信息的传递	(57)
七、振荡器	(16)	一、复制	(57)
八、超净工作台	(18)	二、转录	(60)
第三节 实验室基础准备工作	(18)	三、翻译	(66)
一、实验用水的制备	(18)	第三章 核酸的制备	(70)
二、消毒灭菌	(20)	第一节 真核细胞 DNA 的制备	(70)
三、液氮的使用	(23)	一、概论	(70)
四、实验器具的硅化	(24)	二、从培养的动物细胞或组织中提取高 分子质量 DNA	(73)
五、实验用醇及酚类的准备	(25)	三、血液样品中 DNA 的制备	(76)
第四节 实验用试剂	(27)	四、残存蛋白质和 RNA 的检测	(77)
一、分子生物学实验室常用试剂浓度表 示法	(27)	五、真核细胞基因组 DNA 制备中的注 意事项	(78)
二、试剂的保存	(28)	第二节 细菌细胞 DNA 的提取	(78)
三、实验室中试剂的管理	(28)	一、试剂	(78)
第五节 安全防护	(28)	二、实验流程	(79)
一、放射性核素的防护	(28)	三、制备大分子质量细菌 DNA 的几个关 键步骤	(79)

第三节 质粒 DNA 的分离纯化 … (80)	三、双向电泳结果的分析鉴定 …… (127)
一、概论 …… (80)	第八节 凝胶扫描、成像系统 … (131)
二、氯化铯密度梯度离心法 …… (82)	第五章 工具酶 …… (133)
三、碱裂解法 …… (83)	第一节 限制性内切酶 …… (133)
四、煮沸法 …… (85)	一、概述 …… (133)
五、试剂盒提取及纯化质粒 …… (85)	二、常用的三种内切酶 …… (135)
第四节 RNA 的制备 …… (86)	三、其他类型内切酶 …… (138)
一、RNA 的结构和分布 …… (86)	四、甲基化酶 …… (139)
二、RNA 制备中的关键因素 …… (89)	五、与内切酶相关的几个概念 …… (140)
三、组织细胞总 RNA 分离制备 …… (91)	六、限制性内切酶酶切反应 …… (142)
第四章 电泳技术 …… (94)	七、DNA 分子的限制性内切酶酶谱 …… (143)
第一节 电泳技术的基本原理 …… (94)	第二节 DNA 重组常用的其他酶类 …… (145)
第二节 影响泳动率的因素 …… (95)	一、DNA 聚合酶 …… (145)
一、样品 …… (95)	二、RNA 聚合酶 …… (147)
二、支持介质 …… (95)	三、DNA 连接酶 …… (147)
三、电场强度 …… (96)	四、反转录酶 …… (148)
四、缓冲液的离子强度 …… (97)	五、核糖核酸酶 A …… (148)
第三节 凝胶电泳的基本技术和条件 …… (97)	六、核糖核酸酶 T ₁ …… (148)
一、核酸凝胶电泳的分类 …… (97)	七、核糖核酸酶 H …… (149)
二、缓冲液系统 …… (98)	八、核糖核酸酶 U ₂ 、核糖核酸酶 CL ₃ …… (149)
三、样品的配制 …… (99)	九、脱氧核糖核酸酶 I …… (149)
四、电泳条件的考虑 …… (100)	十、核酸酶 S ₁ …… (149)
五、染色 …… (100)	十一、核酸酶 Bal31 …… (149)
六、电泳结果的记录 …… (101)	十二、核酸外切酶 …… (149)
第四节 琼脂糖凝胶电泳 …… (102)	十三、末端转移酶 …… (150)
一、仪器设备及材料 …… (103)	十四、多核苷酸激酶 …… (150)
二、电泳操作步骤 …… (104)	十五、碱性磷酸酯酶 …… (150)
第五节 碱性琼脂糖凝胶电泳 … (106)	第六章 基因克隆技术 …… (151)
第六节 聚丙烯酰胺凝胶电泳 … (107)	第一节 目的基因 DNA 的制备 … (151)
一、仪器设备及试剂 …… (108)	一、从染色体中获得 …… (151)
二、制胶准备 …… (109)	二、人工合成 …… (153)
三、制胶 …… (110)	三、聚合酶链式反应扩增特定的基因片段 …… (153)
四、电泳 …… (111)	第二节 基因克隆载体 …… (153)
五、染色及结果观察 …… (111)	一、质粒 …… (154)
第七节 双向电泳 …… (111)	
一、等电聚焦电泳 …… (113)	
二、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 …… (122)	

二、噬菌体	(162)	第五节 耐热 DNA 聚合酶	(229)
三、真核细胞为宿主的克隆载体	(171)	一、 <i>Taq</i> DNA 聚合酶	(229)
四、反转录病毒载体	(178)	二、其他耐热 DNA 聚合酶	(232)
第三节 DNA 分子的体外重组	(179)	第六节 热启动 PCR	(233)
一、DNA 连接酶	(179)	一、热启动 PCR 的原理	(233)
二、外源性基因 DNA 片段与载体 DNA 的连接	(182)	二、热启动 PCR 的几种技术	(233)
三、影响 DNA 连接的因素	(187)	第七节 降落 PCR	(235)
四、DNA 在凝胶内的连接	(187)	第八节 PCR 相关技术的发展	(236)
第四节 重组 DNA 导入宿主细胞	(188)	一、不对称 PCR	(237)
一、转化的方法	(189)	二、多重 PCR	(238)
二、氯化钙法转化大肠杆菌(全部过程 需无菌操作)	(190)	三、着色互补 PCR	(239)
三、重组 DNA 克隆的筛选与鉴定	(191)	四、巢式 PCR	(239)
第五节 基因组文库的构建	(195)	五、锚定 PCR	(240)
一、构建基因文库的准备条件	(196)	六、反向 PCR	(240)
二、基因文库的构建	(199)	七、锅柄 PCR	(242)
第六节 cDNA 文库的构建	(207)	八、增敏 PCR	(242)
一、总 RNA 的提取及 mRNA 的制备	(207)	九、重组 PCR	(242)
二、cDNA 文库的构建	(209)	十、表达 PCR	(244)
第七章 聚合酶链式反应	(215)	十一、原位 PCR	(244)
第一节 PCR 基本原理	(215)	十二、RNA 的聚合酶链反应	(245)
一、基本原理	(215)	十三、cDNA 末端快速扩增	(246)
二、“长产物片段”与“短产物片段”	(217)	十四、差异显示 PCR	(251)
三、平台效应	(217)	十五、定量 PCR	(251)
第二节 PCR 反应条件的优化	(219)	第九节 PCR 产物的检测	(260)
一、标准 PCR 反应流程	(219)	一、琼脂糖凝胶电泳	(260)
二、PCR 反应条件的优化	(220)	二、聚丙烯酰胺凝胶电泳	(260)
第三节 引物的设计	(224)	三、层析技术	(261)
一、设计原则	(224)	四、分子杂交	(261)
二、引物长度	(224)	五、微孔板夹心杂交法	(261)
三、引物的 5' 端修饰法	(225)	六、限制性内切酶酶切分析	(261)
四、简并引物	(226)	七、酶免疫法检测 PCR	(262)
五、嵌套引物	(228)	八、PCR 扩增产物的直接测序	(262)
第四节 PCR 反应模板的制备	(228)	第十节 PCR 的污染及对策	(263)
		一、PCR 污染	(263)
		二、污染的预防	(263)
		三、对照实验	(263)
		四、污染源的处理	(264)
		第十一节 PCR 技术的应用	(265)

一、基因分析	(265)	第三节 非放射性核素探针的检测	(305)
二、定序克隆	(270)	一、光学检测	(305)
三、序列分析	(271)	二、化学发光检测	(307)
第八章 核酸分子探针的标记	(273)	第四节 使用 DIG 标记的探针进行	
第一节 概述	(273)	菌落和噬菌斑的杂交 ...	(309)
一、探针的种类及其选择	(273)	一、菌落/噬菌斑滤膜的准备步骤 ...	(309)
二、各种标记物及其选择	(274)	二、DIG 标记的 DNA 探针与菌落/噬	
三、各种标记方法及其选择	(278)	菌斑滤膜的杂交	(310)
第二节 非放射性 DIG 标记方法		三、化学发光法检测探针-靶基因杂交	
.....	(279)	信号	(311)
一、非放射性 DIG 标记方法的比较		四、显色法检测探针-靶基因杂交信号	
.....	(279)	(311)
二、PCR 标记法	(280)	五、菌落/噬菌斑杂交的影响因素 ...	(312)
三、随机引物标记法	(283)	第五节 核酸原位杂交	(312)
四、体外转录标记 RNA 探针	(285)	一、核酸原位杂交的基本要点	(312)
五、三种标记方法重要参数的比较简表		二、结果的评定	(315)
.....	(289)	附: Western 印迹检测表达蛋白质	
第三节 探针标记效率的评估 ...	(289)	(315)
一、直接检测过程	(290)	一、哺乳细胞的裂解	(316)
二、琼脂糖凝胶电泳分析 PCR 标记探针		二、蛋白质的电转移	(316)
.....	(290)	三、封闭	(317)
第九章 核酸分子杂交	(292)	四、靶蛋白与第一抗体反应	(317)
第一节 Southern 杂交	(292)	五、与第二抗体反应	(317)
一、琼脂糖凝胶分离 DNA 样品	(292)	六、显色	(318)
二、DNA 的转膜(Southern 印迹、虹吸		第十章 测序	(319)
印迹法)	(293)	第一节 概论	(319)
三、预杂交	(295)	第二节 Sanger 双脱氧法	(320)
四、DIG 标记的 DNA 探针与靶 DNA 的		一、基本原理	(320)
杂交	(296)	二、经典测序反应——M13 单链测序系	
第二节 RNA 探针的 Northern 杂交		统	(322)
.....	(300)	三、双链 DNA 测序反应系统	(330)
一、琼脂糖凝胶分离 RNA 样品	(300)	四、循环测序法	(333)
二、RNA 的转膜(Northern 印迹、虹吸		五、PCR 产物直接测序	(335)
印迹法)	(302)	第三节 Maxam-Gilbert 化学法	
三、预杂交	(302)	(338)
四、DIG 标记的 RNA 探针与 RNA 的杂		一、化学法基本原理	(338)
交	(303)		
五、做核酸杂交时,如何取得良好结果			
.....	(304)		

二、化学法测序的一般流程	(338)	一、siRNA 的作用机制	(406)
三、化学法的优缺点	(341)	二、siRNA 的特点	(406)
第四节 杂交测序	(342)	三、siRNA 技术的关键步骤	(407)
第五节 自动化测序	(345)	四、siRNA 的应用	(408)
一、自动化测序仪	(345)	五、不足与展望	(410)
二、全自动化测序流程	(351)	第十二章 生物信息学及其在分子生物	
第六节 DNA 大片段序列测定的战		技术中的应用	(412)
略	(356)	第一节 概述	(412)
一、随机测序	(356)	一、生物信息学的概念	(412)
二、定向测序法	(360)	二、生物信息学的发展	(413)
三、全基因组测序策略	(362)	三、生物信息学的研究现状	(415)
第七节 DNA 测序技术新进展	(364)	第二节 生物信息学的研究方法和	
第十一章 新技术	(368)	内容	(417)
第一节 mRNA 差异显示技术	(368)	一、研究方法	(417)
一、概述	(368)	二、研究内容	(431)
二、基本原理	(371)	第三节 生物信息数据库	(435)
三、实验设计和优化	(372)	一、生物信息数据库及其分类	(435)
四、实验操作	(378)	二、生物信息数据库介绍	(436)
五、差异显示技术衍生的方法	(386)	三、数据库的查询	(438)
六、差异显示技术的应用	(387)	四、全球生物信息数据库	(439)
七、存在的问题和解决的策略	(394)	第四节 序列比对和数据库搜索	
八、展望	(395)	(450)
第二节 生物芯片	(396)	一、序列比对	(450)
一、生物芯片技术的基本原理	(397)	二、数据库搜索	(451)
二、生物芯片技术的特点	(397)	第五节 生物信息学的应用	(454)
三、生物芯片的应用	(398)	一、序列分析	(454)
四、生物芯片技术存在的问题及发展前		二、核酸序列装配和拼接	(461)
景	(400)	三、电子基因定位	(462)
第三节 激光捕获纤维切割技术		四、基因表达的电子组织分布	(464)
.....	(402)	五、功能预测	(464)
一、LCM 技术的主要原理及简单操作		六、蛋白质结构预测	(467)
.....	(402)	七、向数据库提交序列	(468)
二、LCM 技术的特点、存在问题及相		八、SNP 分析	(469)
应对策	(403)	九、蛋白质组数据分析	(469)
三、LCM 技术在生命科学中的应用		第六节 研究实例	(472)
状况	(404)	一、实例一	(472)
四、LCM 技术的发展前景	(405)	二、实例二	(476)
第四节 小干扰 RNA	(406)	三、实例三	(477)

四、其他研究路线	(478)	第三节 原代培养和传代培养 ...	(501)
第十三章 蛋白质组学相关技术 ...	(481)	一、原代培养的过程	(501)
第一节 概述	(481)	二、传代培养的过程	(503)
一、蛋白质组学产生的背景及概念	(481)	第四节 培养物的冻存与复苏 ...	(503)
二、蛋白质组学的主要研究内容 ...	(482)	一、冷冻保存方法	(503)
三、蛋白质组学的研究方法	(482)	二、冻存细胞的复苏	(504)
四、蛋白质组学的发展趋势	(484)	第五节 正常细胞培养	(504)
第二节 蛋白质提取与样品制备	(484)	一、鼠成纤维细胞的分离与培养 ...	(504)
一、离液剂、表面活性剂及还原剂的选择	(484)	二、上皮细胞的培养	(505)
二、细胞蛋白质样品的制备	(485)	三、成骨细胞的培养	(506)
三、体液蛋白质样品的制备	(485)	四、胎鼠大脑皮质神经元的培养 ...	(507)
四、组织细胞蛋白质样品的制备 ...	(486)	第六节 肿瘤细胞的培养	(508)
第三节 蛋白质组分离技术	(488)	一、肿瘤组织细胞的原代培养 ...	(508)
一、双向电泳及荧光差异双向电泳	(488)	二、肿瘤细胞的传代	(511)
二、高效液相色谱	(490)	三、肿瘤细胞的克隆培养法	(511)
三、毛细管电泳及毛细管电色谱 ...	(491)	四、肿瘤细胞系	(513)
第四节 质谱技术	(491)	第七节 干细胞培养	(513)
一、基质辅助激光解吸离子化飞行时间质谱	(491)	一、人骨髓间充质干细胞的分离培养	(513)
二、电喷雾电离质谱	(492)	二、小鼠胚胎干细胞(embryonic stem cell, ES)的体外培养及分化	(514)
第五节 蛋白质芯片技术	(493)	三、大鼠胚胎大脑海马神经干/祖细胞培养	(516)
一、表面增强激光解吸/离子化蛋白质芯片技术	(493)	四、人脑肿瘤干细胞(brain tumor stem cells, BTSC)分离和培养	(517)
二、液体芯片-飞行时间质谱技术——CLINPROT 系统	(494)	附 录	(521)
三、抗体芯片	(494)	一、遗传密码子表	(521)
第十四章 细胞培养技术	(496)	二、常用的缓冲液和试剂	(521)
第一节 细胞培养室和基本设备准备	(496)	三、铬酸洗液及配制方法	(528)
一、细胞培养的设备 and 器具	(496)	四、放射性核素资料	(529)
二、实验器材的处理及消毒	(497)	五、核酸及蛋白质数据	(530)
第二节 培养用液	(498)	六、常用分子质量标准参照物 ...	(531)
一、水与平衡盐溶液	(498)	七、细胞培养中出现的常见问题、原因及解决方法	(533)
二、培养液	(499)	八、分子生物学研究中的网上资源	(534)
三、体外培养的其他常用液	(500)	缩略语	(535)
		索 引	(540)

第一章 基础篇

当今,科学研究进展日新月异,新理论、新技术、新仪器设备在不断地诞生和出现。特别是分子生物学近年来发展迅速,已渗透到多个学科领域,极大地推动了医学、药学的发展进程。事实证明,无论在哪个学术领域,要想有新的突破,除了正确的理论指导和科学的实验设计之外,先进的技术方法、良好的仪器设备、正确的操作技能是最重要的保证。

第一节 分子生物学实验室常用基本器具

一、常用基本器具

分子生物学实验室中有一些最基本的常用器具,在实验过程中每天都要使用,但实验者特别是初学者往往对这些极为简单的器具的性质和特点不够了解,从而给整个实验带来影响。

(一) 溶液瓶

溶液瓶(bottle)(图 1-1-1)是最常用的实验室容器之一,其材质多为玻璃和树脂(聚乙烯、聚丙烯),主要是用来贮存各种液体试剂,应该根据试剂的理化性质和其他具体要求来选择溶液瓶。

下面几点应在使用前给以考虑:

- (1) 是否能耐受高压蒸汽灭菌或干热灭菌。
- (2) 瓶体、瓶盖及其内衬对酸、碱的耐受性。
- (3) 特别是选用树脂瓶时,应考虑在贮存过程中瓶体是否可能有某种物质被溶出。

一般来说,需要高压蒸汽灭菌或干热灭菌时应尽量不选用树脂制溶液瓶。尽管聚丙烯树脂能耐受高压,但其在高压时若相邻有其他消毒物品,则极易被挤压变形。此外,含有机溶剂的试剂一般也不宜选用树脂制瓶盛装。

玻璃制溶液瓶具有多种用途,但要注意,NaOH 等强碱溶液对玻璃有腐蚀作用,因此,不宜用玻璃瓶贮存强碱溶液。

瓶盖多为酚树脂制,可以高压消毒,其内衬圈垫如是硅胶或聚四氟乙烯,则可广泛使用。

溶液瓶多为圆形,但也可有四方形等不同形状,容量可有

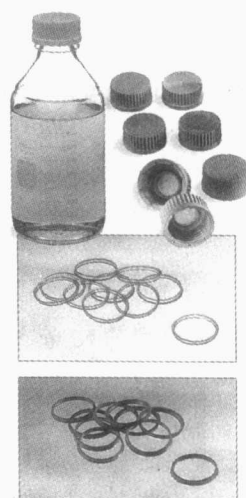


图 1-1-1 溶液瓶

100、250、500、1000ml 等不同规格。

(二) 试管

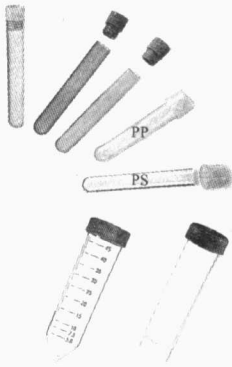


图 1-1-2 各种试管

和溶液瓶一样,试管(test tube)的材质有玻璃和树脂两大类,容量从 2~20ml 不等。根据实验要求,可有平滑圆底、锥形尖底,带刻度、不带刻度,带盖、不带盖,以及带螺口、不带螺口等多种,实验者应根据需要选择(图 1-1-2)。试管用来培养大肠杆菌等时,应该根据管径大小配以橡胶管塞、微孔硅胶塞等,有时也可用两层铝箔纸包裹管口。不论是选择塞子还是铝箔来封闭管口,都应遵循两个原则:一是要能阻止外界空气中尘埃杂菌的污染;二是要保持一定的通气性。除商品化的管塞、盖外,自制棉栓虽然很传统,但效果很好,同时也可根据管径任意调整棉栓的大小。棉栓的制作方法见图 1-1-3。

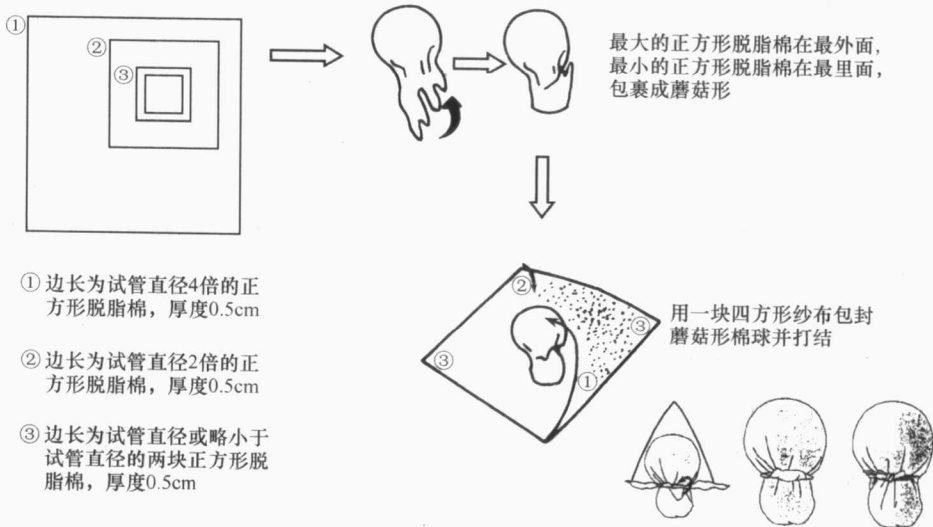


图 1-1-3 棉栓制作示意图

(三) 微型离心管

微型离心管(microcentrifuge tube)为一种特殊形状的离心管(图 1-1-4),以 Eppendorf 厂家生产的最早,故多数实验者俗称此类离心管为 Eppendorf 管。

Eppendorf 管在分子生物学实验中很常用,可以用做进行微量液体间的反应(如 PCR、标记探针),也可用做微量物

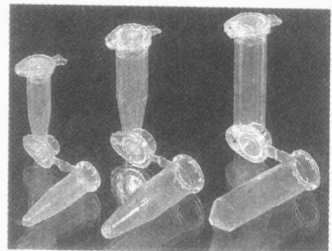


图 1-1-4 微型离心管

质离心沉淀(如核酸抽提等)。

Eppendorf管多为树脂材料制成,容量可分为0.5、1、1.5、2ml等多种。以内外管壁光滑、管盖严密且开启自如为质量上乘。其管壁近似无色透明,可直接观察到微量的内容物。测序专用的Eppendorf管有时制成4种颜色,用以区别A、T、C、G单核苷酸。

如前所述,Eppendorf管多用于微量操作,使用前最好做硅化处理。有时商品出售时已硅化、消毒完毕,使用十分方便。

(四) 微量移液器头

微量移液器头(micropipetter tip)(图1-1-5)为实验室中主要的消耗品之一,与微量移液器配合使用。因制作工艺简单,有众多厂家生产,一般分为三种类型:200~1000 μ l(蓝色)、20~200 μ l(黄色)、1~20 μ l(无色)。微量移液器头在基本形态基础上,根据实验需要不同而分为不同类型:①在吸头与移液器连接的一端腔内加有气溶胶滤膜,防止不慎将样品吸到移液器本体内造成污染。特别是操作含有放射性核素样品时,更具有防护作用。②吸头尖端加工成锥形,在吸取小量的液滴时,使用很方便。③直径为0.3、0.03mm的极细尖端吸头,用做向测序胶或聚丙烯酰胺凝胶的样品池中加样等。

不论何种吸头,在同一实验中不同实验者之间最好统一,以备万一出现计量上的错误时容易发现。此外,为了减少残液留在吸头内壁,使用前应进行硅化处理。



图1-1-5 微量移液器吸头

(五) 平皿

平皿(图1-1-6a)多用于细菌培养及菌落筛选使用,以圆形最为常见,但也有角形平皿。圆形平皿以直径为10和15cm的最为常用,角形平皿多用12cm×15cm大小。

图1-1-6b为复制方格标志图,贴在平皿底部(图1-1-6c、d),有助于单克隆菌株的挑选。

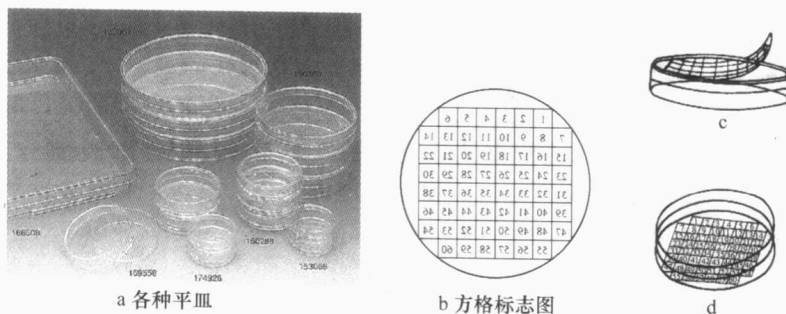


图1-1-6 平皿

(六) 滤过器

在实验中有些试剂或溶液不适合用高压蒸汽灭菌,可使用滤过器(disposable filterware),通过特制的微孔滤膜进行除菌或微细杂质的滤过。滤膜分为亲水性和疏水性,分别用于过滤水溶液和有机溶液。滤膜孔径又可分为 0.2 、 0.4 、 $1.0\mu\text{m}$ 等不同规格,一般来说,使用 $0.2\mu\text{m}$ 滤膜,即可达到除菌目的。此外,使用微孔滤膜过滤和普通滤纸过滤不同,需要一定的外力促使液体通过滤膜,因此,又分成真空负压吸引过滤器和加压型过滤器(图 1-1-7a、b)。利用注射器芯的推动产生压力完成过滤就是一种小型的加压型过滤器(图 1-1-7c)。

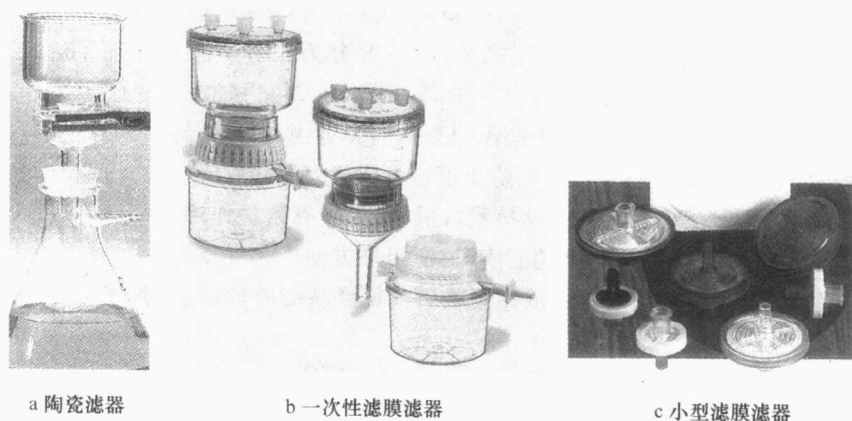


图 1-1-7 滤过器

(七) 移液管

实验中 $1\sim 10\text{ml}$ 的溶液移动多用移液管(pipette)(图 1-1-8a)来完成,实验者用嘴吸(图 1-1-8b)或用橡胶皮球(图 1-1-8c)、小型电动泵(图 1-1-8d)等,使管内产生负压,吸入液体后再向其他容器中注入,故也称为吸管。移液管有玻璃制和树脂制两种。容量多为 10ml 以下,此外,还有无刻度、末端带有膨大部分等多种类型。

在连续吸移同一种液体时,可使用自动移液器(motorized pipetting aid)(图 1-1-8d)进行,将移液管插到自动移液器孔中,利用内装小型电动空气泵的吸、排气的力量,对液体吸引和排出,对大量或连续操作时非常方便。在移动易于挥发或不安全的液体时,应借助橡胶球进行移液,但普通的橡胶球在控制液体量的精确度上有时难以控制,而带有控制气阀的橡胶球(图 1-1-8e、f)配合移液管可以既安全又准确地移动液体。初学者使用时,可能有些难度,但熟练掌握后就会感到十分方便。其具体使用方法如下:

- (1) 先按压 A 阀,并握橡胶皮球使球体排气、变形。
- (2) 取移液管安装在橡胶球阀门 B 侧末端,并将移液管置入要吸取的液体中。
- (3) 用拇指和中指共同按压阀门 B,吸入液体略超过预计吸入的量。
- (4) 再用拇指和中指按压阀门 C,使吸入过量的液体排出,精确保留预计移动的液体。