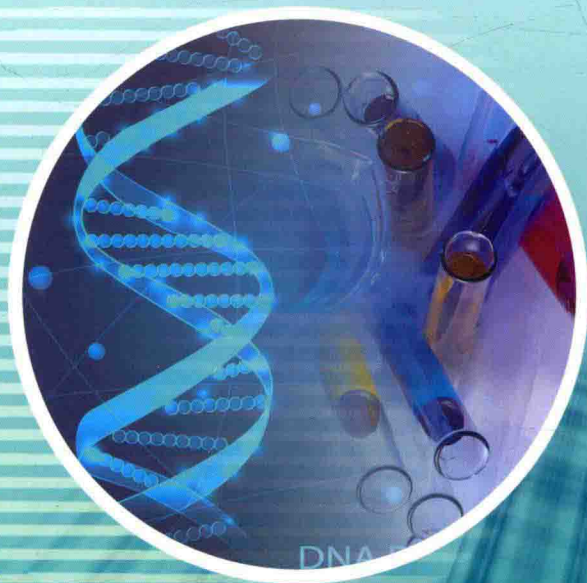


全国高等院校医学实验教学规划教材

医学生物化学与分子生物学 实验教程

◎袁 栎 主编



科学出版社

全国高等院校医学实验教学规划教材

医学生物化学与分子生物学 实验教程

主 编 袁 栎
副主编 陈园园 王 倩
编 委 (以姓氏汉语拼音为序)
陈园园 蒋小陵 江 雯
李 仲 林海燕 刘向华
佟 辉 王林涛 王 宁
王 倩 杨 芬 尹 业
袁 栎 张 伟

科 学 出 版 社

北 京

· 版权所有 侵权必究 ·

举报电话：010-64030229；010-64034315；13501151303（打假办）

内 容 简 介

本教程将生物化学与分子生物学实验内容进行了分类和归纳，把诸多实验方法进行整合，使实验内容更具系统性、条理性，利于学生掌握各项实验方法并了解各种方法间的相互关系。本教程的另一特点是强调实验的应用性，通过案例设置引导学生了解所学实验的应用范围，使学生在掌握实验原理及方法的基础上，提高分析问题、解决问题的能力。

本书可用作高等医学院校生物化学与分子生物学课程配套的实验教材，又可作为本科生开放实验、研究生实验及相关专业人员了解、掌握生物化学与分子生物学实验技术的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

医学生物化学与分子生物学实验教程 / 袁栋主编. —北京：科学出版社，2016.2

全国高等院校医学实验教学规划教材

ISBN 978-7-03-047120-8

I. ①医... II. ①袁... III. ①医用化学-生物化学-实验-医学院校-教材②药理学-分子生物学-实验-医学院校-教材 IV. ①Q5-33 ②Q7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 012191 号

责任编辑：朱 华 赵炜炜 / 责任校对：张凤琴

责任印制：赵 博 / 封面设计：陈 敬

版权所有，违者必究。未经本社许可，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>

大厂书文印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2016年2月第 一 版 开本：787×1092 1/16

2016年2月第一次印刷 印张：8

字数：182 000

定价：29.80 元

（如有印装质量问题，我社负责调换）

前 言

生物化学与分子生物学是生命科学的前沿学科，不断更新的理论与实验技术也大大带动和促进了其他学科的发展。生物化学与分子生物学实验技术现已成为揭示生命奥秘的重要工具。

南京医科大学生物化学与分子生物学系近些年在实验教学上进行了一系列改革。我们在总结实验教学改革经验的基础上，秉承适度实用的原则，编写了这本实验教程。本教程共分为6篇，分别是生物化学与分子生物学实验基本要求、基本实验技术及原理、生物化学实验、分子生物学实验、综合实验、自设计实验。

本教程将实验内容进行了分类和归纳，把生物化学与分子生物学诸多的实验整合成十二章，力求使实验内容更系统，更具条理，利于学生掌握各项实验方法及各种方法间的相互关系。本教程另一特点是强调实验的应用性。在实验开始前设置案例，引导学生在掌握实验原理及方法的基础上，能够结合实际案例进行分析总结，以培养学生分析问题、解决问题的能力。

本书既是高等医学院校生物化学与分子生物学课程配套的实验教材，又可作为本科生开放实验、研究生实验及相关专业人员了解、掌握生物化学与分子生物学实验技术的参考书。

参加本实验教程编写的作者都是从事生物化学与分子生物学教学的一线教师，大家将多年教学的心得和体会融入到本教程中，通力合作完成了本书的编写任务，在此对编写组全体老师的辛勤工作表示敬意和衷心的感谢。同时，也要感谢机能实验室各位老师，正是在他们的大力配合下，我们的实验教学改革才得以顺利进行。

由于我们水平有限，本书难免存在不妥处，恳请同行专家、广大师生及各位读者给予批评指正。

编 者

2015年10月

目 录

第一篇 生物化学与分子生物学实验基本要求

第一章 实验室安全守则	1
第一节 实验室规则	1
第二节 实验室安全	1
第二章 实验设计与实验报告	4
第一节 实验设计	4
第二节 实验误差	5
第三节 实验记录	6
第四节 实验报告	6
第三章 基本实验技能	8
第一节 基本操作	8
第二节 常用实验器材的使用	9
第四章 实验动物与实验样品	12
第一节 实验动物	12
第二节 实验样品	13

第二篇 基本实验技术及原理

第五章 分光光度技术	15
第一节 基本原理	15
第二节 分光光度计	16
第六章 层析技术	18
第一节 基本原理	18
第二节 吸附层析	18
第三节 分配层析	19
第四节 离子交换层析	19
第五节 凝胶层析	20
第六节 亲和层析	21
第七章 电泳	24
第一节 电泳的基本原理	24
第二节 电泳的分类	25
第三节 常用电泳技术	26
第四节 电泳后大分子的检测	28
第八章 离心	29

第一节	离心技术的基本原理	29
第二节	离心分离的常用方法	30
第三节	离心机的主要类型及使用	30
第九章	聚合酶链式反应	33
第一节	标准 PCR	33
第二节	逆转录 PCR	34
第三节	实时荧光定量 PCR	34
第四节	原位 PCR	35
第五节	PCR 扩增产物分析	35
第十章	印迹技术	37
第一节	核酸分子杂交	37
第二节	蛋白质免疫印迹	38
第十一章	重组 DNA 技术	40
第一节	目的基因的获取	40
第二节	载体的选择与构建	41
第三节	目的 DNA 与载体的连接	41
第四节	重组 DNA 分子转入受体细胞	42
第五节	重组体的筛选与鉴定	42
第六节	目的基因的表达	43

第三篇 生物化学实验

第十二章	蛋白质含量测定	44
实验一	改良 Lowry 法测定蛋白质含量	44
实验二	改良微量凯氏定氮法测定蛋白质含量	45
实验三	考马斯亮蓝染色法测定蛋白质含量	47
实验四	BCA 法测定蛋白质含量	48
实验五	紫外吸收法测定蛋白质含量	49
第十三章	蛋白质的分离与纯化	51
实验六	醋酸纤维素薄膜电泳分离血清蛋白	51
实验七	SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离血清蛋白	52
实验八	凝胶柱层析法分离血红蛋白与 DNP-胰糜蛋白酶	54
实验九	离子交换层析法分离混合氨基酸	55
实验十	亲和层析法纯化谷胱甘肽硫转移酶	57
第十四章	酶学实验	59
实验十一	血清肌酸激酶活性测定	59
实验十二	碱性磷酸酶活性测定	61
实验十三	改良穆氏法测谷-丙转氨酶活性	62
实验十四	琥珀酸脱氢酶的竞争性抑制	64
实验十五	乳酸脱氢酶同工酶分析	65
第十五章	糖代谢	67

实验十六	邻甲苯胺法测血糖浓度	67
实验十七	葡萄糖氧化酶法测血糖浓度	68
实验十八	班氏定性法检测尿糖	70
实验十九	胰岛素和肾上腺素对家兔血糖浓度的影响	71
实验二十	饱食和饥饿对动物肝糖原含量的影响	72
第十六章	脂代谢	74
实验二十一	血清甘油三酯含量的测定	74
实验二十二	血清胆固醇含量的测定	76
实验二十三	酮体的生成及测定	77
实验二十四	超速离心法分离血浆脂蛋白	78

第四篇 分子生物学实验

第十七章	基因组 DNA 的提取与鉴定	80
实验二十五	蛋白酶 K 消化法提取基因组 DNA	80
实验二十六	改良碘化钾法提取人外周血基因组 DNA	82
实验二十七	磁珠法提取外周血基因组 DNA	83
实验二十八	DNA 的琼脂糖凝胶电泳	84
第十八章	RNA 的提取与鉴定	86
实验二十九	异硫氰酸胍法提取总 RNA	86
实验三十	动物组织 mRNA 的提取	88
实验三十一	RNA 的甲醛变性凝胶电泳	90
第十九章	感受态细胞的制备和转化	92
实验三十二	CaCl ₂ 法制备感受态细胞及质粒 DNA 转化	92
实验三十三	大肠埃希菌的电击转化	93
第二十章	质粒 DNA 的提取与酶切鉴定	96
实验三十四	碱裂解法提取质粒	96
实验三十五	煮沸裂解法提取质粒	98
实验三十六	质粒 DNA 的酶切鉴定	99
第二十一章	聚合酶链式反应	101
实验三十七	聚合酶链式反应 (PCR)	101
实验三十八	逆转录 PCR	102
实验三十九	实时定量 PCR	104
第二十二章	印迹技术	105
实验四十	Southern 印迹杂交实验	105
实验四十一	Northern 印迹杂交实验	107
实验四十二	蛋白质免疫印迹实验	109

第五篇 综合实验

实验四十三	糖脂代谢检测	112
-------	--------	-----

实验四十四	无虹膜症的基因诊断	113
实验四十五	重组人干扰素的制备	114

第六篇 自设计实验

实验四十六	奶粉中蛋白质含量测定	116
实验四十七	果蔬维生素 C 含量测定	116
实验四十八	血清淀粉酶活性测定	117
实验四十九	亲子关系的鉴定	118
实验五十	2 型糖尿病的基因多态性检测	119
实验五十一	转基因小鼠基因型鉴定	119

第一篇 生物化学与分子生物学 实验基本要求

第一章 实验室安全守则

第一节 实验室规则

(1) 学生进入实验室之前, 须认真阅读本总则及实验室其他规章制度, 并严格遵守。

(2) 实验前须认真预习实验内容, 明确本次实验的目的和要求, 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) 进入实验室或其他实验场地, 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。

(4) 学生在实验室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。

(5) 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, 不得擅自将任何实验器材、试剂、药品等带出实验室。

(6) 实验过程中应听从教师指导, 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。

(7) 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放置, 不得随意丢弃。

(8) 在实验过程中如仪器设备发生故障, 应立即报告指导教师。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。

(9) 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整理试剂及仪器, 经指导教师审核并同意后方可离开实验室。

(10) 应在指导教师规定时间内上交实验报告。

(11) 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, 选择合适的时间段进行开放性实验操作。

第二节 实验室安全

在生物化学与分子生物学实验室中, 着火、爆炸、中毒、触电和割伤的危险时刻存在。

每一位在实验室工作或学习的人员都必须具备充分的安全意识,严格的防范措施和丰富实用的防护救治知识,一旦发生意外能正确地进行处置,以防事故进一步扩大。

1. 着火 生物化学与分子生物学实验室经常使用大量的有机溶剂,如甲醇、乙醇、丙酮、氯仿等,而实验室又经常使用电炉等火源,因此极易发生着火事故。

(1) 火灾的预防

- 1) 严禁在开口容器和密闭体系中用明火加热有机溶剂,只能使用加热套或水浴加热。
- 2) 废弃的有机溶剂不得倒入废物桶,只能倒入回收瓶,集中处理。
- 3) 不得在烘箱内存放、干燥、烘焙有机物。
- 4) 在有明火的实验台面上不允许放置开口的有机溶剂或倾倒有机溶剂。

(2) 火灾的处理方法:实验室中一旦发生火灾切不可惊慌失措,要保持镇静,根据具体情况正确地进行灭火或立即报火警(火警电话 119)。

1) 容器中的易燃物着火时,用灭火毯盖灭。

2) 乙醇、丙酮等可溶于水的有机溶剂着火时可以用水灭火。汽油、乙醚、甲苯等有机溶剂着火时不能用水,只能用灭火毯和砂土盖灭。

3) 导线、电器和仪器着火时不能用水和二氧化碳灭火器灭火,应先切断电源,然后用 1211 灭火器(内装二氟-氯-溴甲烷)灭火。

4) 个人衣服着火时,切勿慌张奔跑,以免风助火势。应迅速脱衣,用水龙头浇水灭火,火势过大时可就地卧倒打滚压灭火焰。

2. 爆炸 生物化学与分子生物学实验室一旦发生爆炸,破坏力极大,后果将十分严重,因此,防止爆炸事故极为重要。常见的引起爆炸事故的原因如下:

(1) 随意混合化学药品,并使其受热、受摩擦和撞击。加热时会发生爆炸的混合物有:有机化合物+氧化铜、浓硫酸+高锰酸钾、三氯甲烷+丙酮等。

(2) 在密闭的体系中进行蒸馏、回流等加热操作。

(3) 在加压或减压实验中使用了不耐压的玻璃仪器,或反应过于激烈而失去控制。

(4) 易燃易爆气体大量逸入室内。

(5) 高压气瓶减压阀摔坏或失灵。

3. 中毒 生物化学与分子生物学实验室常见的化学致癌物有:石棉、砷化物、铬酸盐、溴乙锭等。剧毒物有:氰化物、砷化物、乙腈、甲醇、氯化氢、汞及其化合物等。

(1) 中毒的预防:中毒的原因主要是由于不慎吸入、误食或由皮肤渗入。

1) 保护好眼睛最重要,使用有毒或有刺激性气体时,必须配戴防护眼镜,并应在通风橱内进行。

2) 有毒有害试剂须由专人保管,取用有毒物品时必须配戴橡皮手套。

3) 严禁用嘴吸移液管,严禁在实验室内饮水、进食、吸烟,禁止赤膊和穿拖鞋。

4) 不要用乙醇等有机溶剂擦洗溅洒在皮肤上的药品。

(2) 中毒急救的方法

1) 误食了酸和碱,不要催吐,可先立即大量饮水。误食碱者再喝些牛奶,误食酸者,饮水后再服 $Mg(OH)_2$ 乳剂,最后饮些牛奶。

2) 吸入了毒气,立即转移室外,解开衣领。休克者应施以人工呼吸,但不要对口法。

3) 砷和汞中毒者应立即送医院急救。

4. 外伤

(1) 化学灼伤

1) 眼睛灼伤或掉进异物: 眼内若溅入任何化学药品, 应立即用大量水冲洗十五分钟, 不可用稀酸或稀碱冲洗。若有玻璃碎片进入眼内则十分危险, 必须十分小心谨慎, 不可自取, 不可转动眼球, 可任其流泪。若碎片不出, 则用纱布轻轻包住眼睛急送医院处理。若有木屑、尘粒等异物进入, 可由他人翻开眼睑, 用消毒棉签轻轻取出或任其流泪, 待异物排出后再滴几滴鱼肝油。

2) 皮肤灼伤: 若为酸灼伤, 则先用大量水洗, 再用稀 NaHCO_3 溶液或稀氨水浸洗, 最后再用水洗; 若为碱灼伤, 则先用大量水冲洗, 再用 1% 硼酸或 2% 乙酸浸洗, 最后再用水洗。

3) 溴灼伤: 很危险, 伤口不易愈合。一旦灼伤, 立即用 20% 硫代硫酸钠溶液冲洗, 再用大量水冲洗, 包上消毒纱布后就医。

(2) 烫伤: 使用火焰、蒸汽、红热的玻璃和金属时易发生烫伤。应立即用大量水冲洗和浸泡, 若起水泡不可挑破, 包上纱布后就医。轻度烫伤可涂抹鱼肝油和烫伤膏等。

(3) 割伤: 这是生物化学与分子生物学实验室常见的伤害, 要特别注意预防。尤其是在向橡皮塞中插入温度计、玻璃管时, 一定要用水或甘油润滑, 用布包住玻璃管轻轻旋入, 切不可用力过猛。若发生严重割伤时要立即包扎止血, 就医时务必检查伤部神经是否被切断。

5. 触电 生物化学与分子生物学实验室经常要使用各种仪器设备, 如电泳仪、分光光度计等, 因此每位实验人员都必须做到安全用电, 避免发生一切用电事故。

(1) 防止触电

- 1) 不能用湿手接触电器。
- 2) 电源裸露部分都应绝缘。
- 3) 坏的接头、插头、插座和不良导线应及时更换。
- 4) 先接好线路再插接电源, 反之先关电源再拆线路。
- 5) 仪器使用前要先检查外壳是否带电。
- 6) 如遇有人触电要先切断电源再救人。

(2) 防止电器着火

- 1) 保险丝、电源线的截面积、插头和插座都要与使用的额定电流相匹配。
- 2) 三条相线要平均用电。
- 3) 生锈的电器、接触不良的导线接头要及时处理。
- 4) 电炉、烘箱等电热设备不可过夜使用。
- 5) 仪器长时间不用要拔下插头, 并及时拉闸。
- 6) 电器、电线着火不可用泡沫灭火器灭火。

(张 伟 袁 栋)

第二章 实验设计与实验报告

第一节 实验设计

1. 实验设计的基本要素

(1) 实验对象：实验对象选择的合适与否直接关系到实验实施的难度，以及对实验新颖性和创新性的评价。医学实验的对象通常包括实验动物、人、细胞、细菌和病毒等，一个完整的实验设计中所需实验材料的总数称为样本含量。要根据特定的设计类型估计出较合适的样本含量。

(2) 实验对象的分组：实验对象的设组一般有实验组和对照组，分组时遵循随机原则。每个组内的样品数目必须符合基本的统计分析的要求。实验动物分组也需符合基本的实验动物饲养原则，避免分组后实验对象的数量对实验结果产生影响。

(3) 实验因素：实验因素是指作用于实验对象及对实验结果产生影响的因素，影响的主要因素有：①处理因素：外部施加给实验对象的因素，如处理试剂或药品等的剂量、浓度、作用时间等；②干扰因素：实验对象自身的因素如年龄、性别、体重，又如动物的窝别或批次等。

(4) 实验效应：实验因素作用于实验对象后出现的效应即实验效应。实验效应是反映实验因素作用强弱的标志，必须通过具体的指标来体现。指标的选择要尽可能多地选择客观性强的指标。同时也要考虑指标的灵敏度与特异性、精确性等。只有这样才能对实验结果进行准确分析，从而大大提高实验结果的可信度。

2. 实验设计的原则 实验设计的主要原则包括：对照、随机、重复及均衡。此外，实验设计时也要综合考虑弹性原则、最经济原则以及专业上需要考虑的一些原则。

(1) 对照原则：通常一个实验分为实验组和对照组。实验组是接受实验因素处理的对象组；对照组是不接受实验因素处理的对象组。至于哪个作为实验组，哪个作为对照组，一般是随机决定的。从理论上说，由于实验组与对照组所受到的无关因素的影响是相等的、被平衡了的（即可减少或消除实验误差），故实验组与对照组两者的差异则可认定为是来自实验因素的效果。这样的实验结果是可信的。

对照组的设计包括多种形式，可根据实验目的和内容加以选择。对照主要包括以下几种：

1) 空白对照：又称为正常对照（或阴性对照），空白对照组不加任何处理因素。

2) 自身对照：对照与实验在同一实验对象上进行。如同一实验对象用药前后的对比、先用甲药再用乙药的对比。

3) 组间对照：也称为相互对照，是指几个实验组之间相互对照，而不单独设对照组。如用几种药物治疗某疾病，比较这几种药物的治疗效果。

4) 标准对照：通常指将实验组结果与标准值或正常值对比。实验设计时通常可采用公认（或效果确切，能得出阳性结果）的方法作为参照。在方法学评价时，标准对照（或阳性对照）有重要意义。

实验对照原则是设计和实施实验的准则之一。通过设置实验对照对比，即可排除无关

变量的影响,又可增加实验结果的可信度和说服力。

(2) 随机原则:随机原则是指实验样本的抽取是在实验对象的总体中随机抽取的。如果在同一实验中存在多个处理因素,则各因素作用顺序的机会也是均等的。简单地说,随机原则的概念包括随机抽样、随机分组、随机实验顺序。

(3) 重复原则:重复原则即控制某种因素的变化幅度,在相同实验条件下做多次独立重复实验,观察其对实验结果影响的程度。任何实验都必须能够重复,这是具有科学性的标志。一般认为重复5次以上的实验才具有较高的可信度。

(4) 均衡原则:均衡是指在相互比较的各组间,除了要考虑施加的处理因素条件一致外,其余因素特别是可能影响实验结果的干扰因素要尽量相同。如动物实验要求各组间动物的数量、种系、性别、年龄、体重、毛色等要尽量一致,实验仪器、药品、时间等方面也应一致,这样才能有效减少实验误差。

第二节 实验误差

由于实验对象的个体差异、内外因素的影响,样本的有限性,认识能力和目前检测技术的限制,可能会产生实验结果偏离客观事实的现象。由任何原因造成的这种偏离都称为误差。误差虽然不可能消除,但如果把误差控制在一定范围内,实验结果依然可以反映真实情况。但如果对误差不予考虑、不予控制,会因为误差的存在而经不起重复,导致错误的结论。

根据其来源和性质的不同,误差分为随机误差和系统误差。

1. 随机误差 随机误差是由于各种因素(包括环境、仪器及实验者本人)的起伏,对实验结果所产生的综合影响而形成的。随机误差主要来源于随机测量误差和抽样误差,是不可避免的。

随机测量误差是指在同样条件下,用同一方法,对同一实验对象的某项指标(如血清、尿等)重复进行测量,在极力控制或消除系统误差后,每次测量结果仍会出现差异的现象。抽样误差的产生是因为实验研究通常是从总体中随机抽取一定的样本,通过对样本中每个个体的结果来推论总体。由于个体差异的存在,抽得的样本指标并不恰好等于总体指标,这种在抽样过程中所造成的样本指标与总体指标间的差异称为抽样误差。

虽然随机误差不能消除,但可以对其进行控制以减小误差:①选择符合要求的测量方法或工具;②按统一标准进行多次重复测量;③改善实验设计和抽样方案;④增加样本量等。

2. 系统误差 系统误差是指由各种已知或可控制因素造成的实验结果有倾向性地偏离真实值的误差。系统误差主要来源于三方面:人为因素、测量因素、环境因素等。系统误差是有可能克服、也应该尽量去克服的误差。

人为因素是指参与实验的人员有意或无意间由于个人原因导致的误差,如对反应终点颜色深浅的判断、对仪器指针位置的判断等;测量因素是指在指标测量时由于测量仪器或器具不准确、试剂不纯、测量手段不标准、操作不熟练等因素造成的误差;环境因素是指测量时的温度、湿度、风速等与所要求的条件差别较大,此时也会带来一定误差。

控制系统误差可以从以下几方面入手:①选择合适的仪器,测量前检查仪器;②严格

按照实验步骤、方法操作,按统一标准进行多次重复测量;③熟练掌握各种测量器具的使用方法,准确读数;④选择环境条件比较稳定时的读数等。通过以上措施可以消除系统误差产生的根源。

第三节 实验记录

实验过程中应详细、准确、如实地记录主要实验条件、实验中观察到的现象、原始实验数据。记录如果有误,会导致整个实验失败。做好实验记录也是培养学生实验能力和严谨的科学作风的一个重要方面。

(1) 每位同学必须准备一个实验记录本,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和数据记录表格等。

(2) 记录本上要编好页数,不得撕缺和涂改,写错时可以划去重写。不得用铅笔记录,只能用钢笔和圆珠笔。记录本的左页做计算和草稿用,右页用做预习报告和实验记录。同组的两同学合做同一实验时,两人必须都有相同、完整的记录。

(3) 实验中应及时准确地记录所观察到的现象和测量的数据,条理清楚,字迹端正,切不可潦草以致日后无法辨认。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,如吸光度值应为“0.050”,而不能记成“0.05”。每个结果都要尽可能重复观测两次以上,即使观测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、生产厂商等;生物材料的来源、健康状况、选用的组织及其重量等;试剂的规格、化学式、分子量、试剂的浓度等,都应记录清楚。二人一组的实验,必须每人都做记录。

第四节 实验报告

实验报告是对实验的总结和汇报,通过撰写实验报告可以学会处理各种实验数据的方法,分析、总结实验中存在的问题和解决方法,加深对相关理论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基础。实验结束后,应及时整理和总结实验记录,撰写实验报告,实验报告的格式如下:

1. 实验名称 包括实验题目、实验者的详细信息(姓名、学号、班级、同组人员等)及实验日期。

2. 实验目的 简明扼要地写出实验欲达到的目的。

3. 实验原理 简明扼要地写出实验设计所依据的主要原理及实验中涉及的重要概念。

4. 实验材料 包括实验所用的样品、仪器和试剂等。

5. 操作步骤 简明扼要地写出实验步骤,可以用流程图或示意图来描述,并标注出实验过程中的关键环节。

6. 实验结果 实事求是地记录原始数据,不可弄虚作假或抄袭,进而对原始数据进行整理、计算。

7. 分析讨论 讨论应从实际实验结果出发,从理论上对其进行分析、比较、阐述、推论和预测。讨论的基本内容包括:结合实验原理、实验方法对实验结果(正常和异常)进行综合分析、解释,说明实验结果,重点阐述实验中出现的一般规律与特殊性规律之间的关系;对实验设计的认识、体会和建议;对实验失败的原因进行分析等。

实验报告要按照上述要求,写在实验报告专用纸上。实验报告须独立完成,严禁抄袭。

(张 伟 袁 栋)

第三章 基本实验技能

第一节 基本操作

1. 玻璃仪器的清洗与干燥

(1) 玻璃仪器的清洗

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 0.5% 的去污剂洗刷, 再用自来水洗净, 然后浸泡在 1%~2% 盐酸溶液中过夜(不可少于 4 h), 再用自来水冲洗, 最后用去离子水冲洗两次, 在 100~120℃ 烘箱内烘干备用。

2) 用过的玻璃仪器的清洗: 先用自来水洗刷至无污物, 再用毛刷蘸去污剂(粉)洗刷, 或浸泡在 0.5% 的清洗剂中超声清洗(比色皿绝不可用超声清洗), 然后用自来水彻底洗净去污剂, 用去离子水洗两次, 烘干备用(计量仪器不可烘干)。

3) 石英和玻璃比色皿的清洗: 绝不可用强碱清洗, 因为强碱会侵蚀抛光的比色皿。只能用洗液或 1%~2% 的去污剂浸泡, 然后用自来水冲洗。清洗时使用一支绸布包裹的小棒或棉花球棒刷洗, 效果会更好。清洗干净的比色皿以内外壁不挂水珠为清洗干净的标准。

(2) 玻璃仪器的干燥: 生物化学与分子生物学实验中用到的玻璃器皿经常需要干燥, 通常都是用烘箱或烘干机在 100~120℃ 进行干燥, 而不要用丙酮荡洗再吹干的方法来干燥。

2. 塑料器皿的清洗与干燥

(1) 塑料器皿的清洗: 第一次使用塑料器皿时, 可先用 8.0 mol/L 尿素(用浓盐酸调 pH 1.0)清洗, 接着依次用去离子水、1.0 mol/L 氢氧化钾溶液和去离子水清洗, 然后用 10^{-3} mol/L EDTA 除去金属离子的污染, 最后用去离子水彻底清洗, 以后每次使用时, 可只用 0.5% 的去污剂清洗, 然后用自来水和去离子水洗净即可。

(2) 塑料器皿的干燥: 塑料器皿可以利用烘箱 60℃ 烘干(不耐高温的塑料制品); 硝酸纤维素的塑料离心管加热时会发生爆炸, 所以绝不能放在烘箱中干燥, 只能用冷风吹干。

3. 特殊污物的清洗

(1) 蛋白质污物: 45%~50% 尿素为除蛋白质的良好溶剂, 10% 氢氧化钠溶液可除去蛋白质。

(2) 油污类污物: 有机溶剂如乙醇、丙酮、乙醚等, 可用于洗油脂、脂溶性染料等, 也可用 5%~10% 的磷酸钠溶液对油污物进行处理。

(3) 金属污物: 常利用 5% 硝酸溶液和稀盐酸去除金属和金属氧化物。

4. 溶液的混匀 混匀不仅是促进化学反应速度的一个重要环节, 也是物质溶解和溶液稀释过程中的必经操作步骤。混匀操作应根据容器的大小和形状以及所盛溶液的多少和性质而采用不同的方法。

(1) 甩动混匀: 手持试管上部, 轻轻甩动、振摇, 可以将液体混匀。适用于试管中液体较少时。

(2) 弹打混匀: 手持容器上端, 用手指弹动或拨动容器下部, 使溶液在容器内做涡旋

状运动。适用于小试管和微型离心管等内容物的混匀。

(3) 旋转混匀：手持容器上端，以手腕、肘或肩做轴旋转容器底部，不应上下振动。适用于未盛满溶液的锥形瓶、试管和小口容器中内容物的混匀。

(4) 倒转混匀：适用于具塞的容器，如容量瓶、具塞量筒和具塞离心管等内容物的混匀。

(5) 玻璃棒搅拌混匀：适用于烧杯内容物的混匀，如固体试剂的溶解和混匀。

(6) 转动混匀：适用于黏稠性大的溶液的混匀，但液量不可太满，以占容器容积的 $1/3 \sim 2/3$ 为宜，混匀时手持容器上部，使容器底部在桌面上做快速圆周运动。

(7) 倾倒混匀：适用于液量多、内径小的容器中溶液的混匀。操作是用两个洁净的容器，将溶液来回倾倒数次，以达到混匀目的。

(8) 吸量管混匀：操作是先用吸量管吸取溶液，吸量管嘴提离液面少许，再把吸量管中的液体用劲吹回溶液中；反复吸吹数次，使溶液充分混匀。

(9) 振荡器混匀：利用振荡器使容器中的内容物振荡，达到混匀的目的。

(10) 电磁搅拌混匀：是把装有待混匀溶液的烧杯放在电磁搅拌器上，在烧杯内放入封闭于玻璃或塑料管中的小铁棒，利用电磁力使小铁棒旋转，以达到混匀烧杯中溶液的目的。

5. 溶液的过滤 过滤的目的是使沉淀与液体分离。在试管内生成的沉淀，通常利用离心法即可把沉淀分离出来，但大量的沉淀生成时，小型离心机就不能达到分离沉淀的目的。所以，大量的沉淀多采用过滤分离法。

(1) 常压过滤：常压过滤就是不外加任何压力，滤液在自然条件下通过介质进行过滤。适用于滤液黏度小、沉淀颗粒粗、过滤速度快的样品。过滤介质可选用孔隙较大的滤纸、脱脂棉、纱布等。

(2) 减压过滤：减压过滤就是在介质下再抽气减压，提高过滤速度的方法。常用于滤液黏度较大溶液、滤液为胶体溶液、沉淀颗粒很小的溶液以及不易在常压下过滤的溶液等。

6. 溶液的加热与冷却

(1) 加热：加热的方法有两种，一种是直接加热，一种是间接加热。直接加热是将加热器皿直接置于火焰或电炉上加热。间接加热系通过受热介质，如水浴、油浴、砂浴等将热传递给受热器皿或物体。

玻璃器皿直接加热时，需加隔石棉网，使受热均匀，避免炸裂。间接加热时，受热温度要求在 100°C 之内者，可用水浴；受热温度要求在 100°C 以上者，可采用油浴和砂浴等方法。用油浴时，受热容器的外壁切勿沾有水珠，以防油向外暴溅伤人或引起火灾。

(2) 冷却：冷却时，常用冷水或冰水浸浴，或用流水冲淋。若要求冷却温度在 0°C 以下时，可用盐冰浴（盐类加碎冰块混合使用）。

第二节 常用实验器材的使用

1. 移液器材的使用

(1) 滴管：滴管可用于半定量移液，其移液量为 $1.0 \sim 5.0 \text{ mL}$ ，常用 2.0 mL ，可换不同大小的滴头。滴管有长、短两种，近来新出现一种带刻度和缓冲泡的滴管，可以比普通滴管更准确地移液，并防止液体吸入滴头。