

生命科学导论实验指导

吴 坚 廖 海 主编



科学出版社



生命科学导论实验指导

吴 坚 廖 海 主编



科学出版社

北 京

内 容 简 介

本教材由西南交通大学生命科学与工程学院“生命科学导论素质教育系列公共课教学团队”组织编写。教学宗旨是以生命系统为主线,从微观到宏观,使学生达到“了解生命、尊重生命、热爱生命”的教学目标。本教材共4个单元,20个实验。具体内容选取经典与现代相结合的实验项目,充分体现实验教学内容的基础性、科学性、趣味性和探究性,适应面宽,可操作性强,能很好地发挥学生的主观能动性。每个实验均有背景知识和相关思考,可启发学生思维,开阔视野,激发学生的学习兴趣。

本教材既适合非生物专业通识教育教学课程使用,也可供高等学校相关人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

生命科学导论实验指导/吴坚,廖海主编. —北京:科学出版社,2016.5
ISBN 978-7-03-048112-2

I. ①生… II. ①吴… ②廖… III. ①生命科学-实验-高等学校-教材 IV. ①Q1-0

中国版本图书馆CIP数据核字(2016)第087682号

责任编辑:刘 畅/责任校对:贾伟娟
责任印制:徐晓晨/封面设计:迷底书装

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>

北京京华虎彩印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2016年5月第 一 版 开本:720×1000 B5

2016年5月第一次印刷 印张:6

字数:108 000

定价:19.80元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

编委会名单

主 编 吴 坚 廖 海

副 主 编 李 萍 李遂焰

其他编委（以姓氏汉语拼音为序）

李 琳 刘艳秋

罗红霞 彭雪林

徐 柳 姚 宁

叶 春 袁 艺

赵焕瑛 周嘉裕

前 言

生命科学是推动 21 世纪自然科学发展与社会进步的关键性学科。为了顺应 21 世纪经济、社会、科技、文化发展对高等教育人才培养的要求，西南交通大学生命科学与工程学院于 2000 年首次为非生物类专业的本科生开设了“生命科学导论”公共选修课，旨在通过课程学习使在校大学生了解生命、尊重生命与热爱生命。经过 16 年的发展，该课程受到学校师生的一致好评，学生选课踊跃，教学效果显著，并入选 2010 年度西南交通大学通识教育基础课。为了更好地弘扬科学精神、提高科学素养，我们相继在课程中增设了实验课程，并单独开设“生命科学导论实验”，力求加深学生对生物科学的认识，进一步激发学生学习生命科学与生物技术知识的兴趣，并对现代分子生物学技术有所了解。本实验课程从培养学生的科学观与相关技术入手，力图促进学生形成正确的世界观、人生观、价值观，全面提升学生的科学、文化和思想素质。

本教材力求在实验技术上具备基础性、科学性和先进性，并在实验教学理念、方法和目的上进行一些新的尝试。书中不仅对实验过程尽可能地详述，还介绍了实验原理与技术背景，同时提出教学建议。力求突破以往“实验”只为课堂教学内容“求证”的旧模式，提出更高、更全面的实验目的，即除了印证课堂知识外，还要使学生掌握生物学的基本研究方法，并具有对生物界的基本观察和分析能力。

本教材具有以下特色：①内容精炼，在编写过程中，编者进行了认真的调研、比较、分析和选择，结合教学实践精心筛选、提炼实验内容；②经典与现代相结合，本教材不仅有经典的、常规的实验，也有部分现代的生物学实验；③启发与思考相结合，本教材旨在培养学生的独立观察能力及分析问题、解决问题的能力。

全书共分 4 个单元，第一单元，生命的物质基础——生物大分子（4 个实验，由李遂焰、廖海与刘艳秋编写）；第二单元，生命的繁衍——细胞、遗传与进化（8 个实验，由徐柳、姚宁、廖海、吴坚、罗红霞、周嘉裕与叶春编写）；第三单元，多彩的生物世界——生物体的结构与功能（5 个实验，由吴坚、刘艳秋、罗红霞、彭雪林、周嘉裕与赵焕瑛编写）；第四单元，生物与环境——生态与可持续发展（3 个实验，由李萍与袁艺编写）。

本教材从策划到编写历时两年多，在此感谢科学出版社的大力支持，也要感谢西南交通大学教务处和生物系同事的支持，特别要感谢参与课程学习的学生，

本教材的编写离不开他们的鼓励。感谢西南交通大学本科教育教学研究与改革项目“1502024, 1503008, 1503051, 1505055”对本教材的经费支持。

本教材虽为多人合编，但其体例统一，行文顺畅，表述简明，协同较好。但因编者的学识水平有限，难免会有不足之处，敬请各位老师和学生在使用过程中批评指正，不胜感激。

编 者

2016年3月于西南交通大学

实验须知

一、学生自备的实验用品。

1. 记录本。
2. 绘图用具一套（HB 及 2H 铅笔各一支，软橡皮，直尺，铅笔刀等）。
3. 实验指导书。
4. 实验服一件。

二、每次实验前必须认真预习本实验指导书，明确实验目的、实验内容、实验要求和实验操作方法，每次实验课均应将本实验指导书、相关参考书及实验用品带到实验室。

三、学生应按规定时间，提前 5min 进入实验室，做好实验准备。

四、学生不得无故缺席或迟到、早退，若有病、有事应按学校规定办理请假手续。实验时应保持安静，认真观察分析，实验课后认真完成作业。

五、学生应在教师指导下，按照操作规程，谨慎使用各种仪器设备、用具和实验标本（如玻片标本、浸泡标本等），使用前应认真检查，如有缺损，立即报告，以便补充。因违反操作规程造成的损坏按有关规定处理。

六、在实验过程中，若仪器设备故障或损坏，应立即切断电源、气源，并报告实验老师及时处理。

七、实验数据必须如实记录，不能随意杜撰和拼凑。

八、学生应保持实验室整洁，桌面上不要乱放与本次实验无关的书籍、仪器、药品。禁止吸烟和饮食。

九、实验完毕，应将实验仪器设备和用具归放原处，将实验废液倒入专用的废液收集瓶，以待集中处理。并打扫卫生，关好水、电、门、窗，经老师检查合格后离开。

实验室安全协议书

学院

课程名称：生命科学导论实验

课程代码：_____

我已认真阅读、知晓并同意了本实验室的实验须知。我已知晓所有进入本实验室参与实验的学生必须服从并坚持实验须知。我已知晓如果我未穿戴实验服，助教、实验室管理人员与（或）实验室安全监督人员有权拒绝我进入实验室。并且，如果我的行为有可能对我本人及其他实验人员造成伤害，助教、实验室管理人员与（或）实验室安全监督人员有权将我驱逐出实验室。

姓名：_____

学号：_____

专业：_____

电话：_____

紧急联系信息

姓名：_____

与学生关系：_____

电话：_____

学生签名：_____

实验管理人员：_____

目 录

前言

实验须知

实验室安全协议书

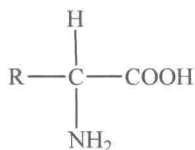
第一单元 生命的物质基础——生物大分子	1
实验 1 氨基酸的分离鉴定	1
实验 2 果蔬中维生素 C 的测定	4
实验 3 蛋白质的沉淀反应	8
实验 4 肝细胞 DNA 的制备	11
第二单元 生命的繁衍——细胞、遗传与进化	14
实验 5 显微镜下的生命体	14
实验 6 密度梯度离心法分离叶绿体	22
实验 7 微生物的分离、纯化与观察	24
实验 8 细菌的革兰氏染色	27
实验 9 发酵食品的制作	29
实验 10 PCR 扩增活细胞 Y 染色体的睾丸决定基因	31
实验 11 人群中 PTC 味盲基因频率的分析	34
实验 12 分子进化分析	36
第三单元 多彩的生物世界——生物体的结构与功能	42
实验 13 植物多样性	42
实验 14 植物种子无菌萌发	49
实验 15 动物多样性的结构与功能	50
实验 16 玻片法鉴定 ABO 血型	69
实验 17 人体脉搏和血压的测量	71
第四单元 生物与环境——生态与可持续发展	75
实验 18 大学校园生态系统调查	75
实验 19 城市植被生态效应的调查	79
实验 20 水体富营养化程度的评价	81
参考文献	86

第一单元 生命的物质基础——生物大分子

实验 1 氨基酸的分离鉴定

氨基酸是构成蛋白质分子的基本单位，是含有氨基和羧基的一类有机化合物。它是生物体内不可缺少的营养成分之一，与生物的生命活动有着密切关系。

氨基酸的结构通式如下，其中 R 基为可变基团。生物体内的蛋白质由 20 种基本氨基酸构成，氨基酸在结构上的差别即取决于侧链基团 R 基的不同。根据 R 基团的化学结构或性质可将 20 种基本氨基酸进行分类。例如，依据侧链基团的化学结构不同，可将氨基酸分为脂肪族氨基酸、芳香族氨基酸、杂环族氨基酸、杂环亚氨基酸等；根据侧链基团的极性不同，可将氨基酸分为极性氨基酸和非极性氨基酸。



不同的氨基酸其味不同，有的无味，有的味甜，有的味苦，如谷氨酸的钠盐有鲜味，是味精的主要成分。各种氨基酸在水中溶解度差别很大，能溶解于稀酸或稀碱中，但不能溶于有机溶剂。通常利用乙醇可将氨基酸从其溶液中沉淀析出。根据各种氨基酸性质的不同，可利用不同的方法将某种氨基酸从氨基酸混合物中分离出来。

氨基酸在人体内参与合成组织蛋白质，可转变为激素、抗体、肌酸等含氮物质；并可转化为碳水化合物和脂肪；经生物氧化后，最终生成二氧化碳和水及尿素，同时释放能量。

人体摄入的蛋白质最终以氨基酸的形式经过血液运送至全身，体内血液氨基酸含量处于动态平衡，肝脏是血液氨基酸的重要调节器官。因此，食物蛋白质经消化分解为氨基酸后被人体吸收，机体利用这些氨基酸再合成自身的蛋白质，人体对蛋白质的需要实际上是对氨基酸的需要。

一、实验目的

1. 了解纸层析法的实验原理。

2. 熟悉氨基酸纸上层析的操作技术（包括点样、平衡、展层、显色及鉴定）。

二、实验原理与内容

层析法，又称色层分离法或色谱法，是利用有色物质在吸附剂上吸附能力不同而使不同组分得到分离的方法，经过分离得到的色柱称为色谱。

纸层析法是以滤纸作为惰性支持介质，其原理主要是分配作用，辅以吸附和离子交换作用。纸纤维上的羟基具有亲水性，能吸附一层水作为固定相，而与水不相混合的有机溶剂作为流动相，不同物质在两相间有不同的分配系数，在纸上移动的距离就不同，因此得以分离。

物质在纸上移动的速率可以用 R_f 值（比移值）来表示：

$$R_f = \frac{\text{原点到层析点中心的距离}}{\text{原点到溶剂前沿的距离}}$$

R_f 值计算测量示意图如图 1-1 所示。

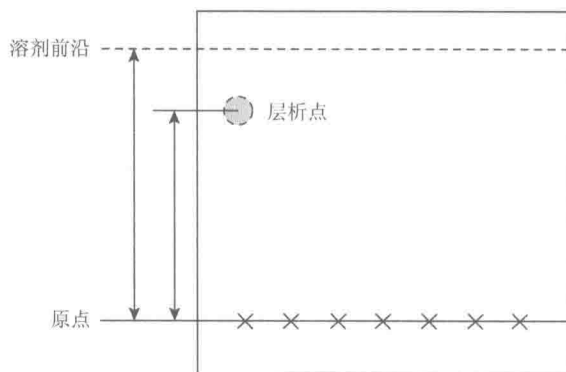


图 1-1 R_f 值计算测量示意图

不同物质在特定条件下，有特异的 R_f 值， R_f 值的大小与溶剂系统、物质的化学性质、层析滤纸的质量、层析温度等因素均有关。

本实验分离的是混合氨基酸样品，层析之后采用茚三酮试剂显色观察。

三、实验材料与用品

1. 实验用品：新华滤纸（16cm×16cm）、铅笔、米尺、棉线、针、一次性手套、层析缸或标本缸、长颈漏斗、小烧杯、培养皿、量筒、毛细吸管、洗耳球、喷雾器（15~20mL）、吹风机（冷、热）、烘箱。

2. 试剂及其配制。

（1）正丁醇。

- (2) 甲酸 (80%)。
- (3) 茚三酮显色剂: 0.5%的茚三酮丙酮溶液。
- (4) 谷氨酸溶液: 称取 10mg 谷氨酸溶于 2mL 蒸馏水中。
- (5) 丝氨酸溶液: 称取 10mg 丝氨酸溶于 2mL 蒸馏水中。
- (6) 亮氨酸溶液: 称取 10mg 亮氨酸溶于 2mL 蒸馏水中。
- (7) 苯丙氨酸溶液: 称取 10mg 苯丙氨酸溶于 2mL 蒸馏水中。
- (8) 赖氨酸溶液: 称取 10mg 赖氨酸溶于 2mL 蒸馏水中。
- (9) 脯氨酸溶液: 称取 10mg 脯氨酸溶于 2mL 蒸馏水中。
- (10) 氨基酸混合液: 上述氨基酸溶液等量混合。

四、实验操作步骤

1. 点样

(1) 取层析滤纸 (16cm×16cm) 一张, 在纸的一端距边缘 2~3cm 处用铅笔画一条直线, 在此直线上每隔 2cm 作一记号, 如图 1-2 所示。



图 1-2 层析滤纸上氨基酸点样示意图

(2) 如图 1-2 所示, 用毛细管将各氨基酸样品分别点在记号上, 斑点扩散直径不超过 0.5cm。点样后用吹风机冷风吹干, 每一个样品点样两次。氨基酸点样量以每种氨基酸含 5~20 μ g 为宜。

2. 平衡与展层

(1) 将正丁醇、甲酸、水按其比例 4:1:1 相混合, 配制约 40mL, 取 10mL 置于小烧杯中作平衡溶剂, 其余备用, 层析液需现用现配。

(2) 将点好样的滤纸两侧边缘对齐, 用线缝好, 卷成筒形, 注意缝线处的滤纸两边不能接触, 操作时需戴手套。

(3) 将盛有平衡溶剂的小烧杯放入层析缸中, 圆筒状滤纸放入直径 9cm 培

养皿中，注意滤纸勿与皿壁接触，盖好钟罩平衡 30min，使层析滤纸被溶液蒸汽饱和。

(4) 打开钟罩上端塞子，将长颈漏斗插入罩内，下端至培养皿底部。通过漏斗将层析溶剂加入 (25mL) 培养皿，点样一端在下方，扩展剂的液面需低于点样线 1cm。待溶剂上升距离边缘 1cm 左右时，取出滤纸，用铅笔画出溶液前沿线。用吹风机热风吹干。

3. 显色

将滤纸挂在铁支架上，用喷雾器均匀喷上 0.5% 茚三酮溶液显色，注意各部分应喷洒均匀，再用吹风机吹尽丙酮，置 60~70℃ 烘箱中烘 10~15min。取出，用铅笔轻轻描出显色斑点的形状，测其距离，计算各氨基酸的 Rf 值。茚三酮显色反应受温度、pH、时间影响较大。

五、实验结果与分析

1. 根据纸层析分离结果，计算各氨基酸的 Rf 值，填入表 1-1 中。

表 1-1 各氨基酸的 Rf 值

序号	样品名称	Rf 值	序号	样品名称	Rf 值
1	谷氨酸溶液		7	氨基酸混合液中样品 1	
2	丝氨酸溶液		8	氨基酸混合液中样品 2	
3	亮氨酸溶液		9	氨基酸混合液中样品 3	
4	苯丙氨酸溶液		10	氨基酸混合液中样品 4	
5	赖氨酸溶液		11	氨基酸混合液中样品 5	
6	脯氨酸溶液		12	氨基酸混合液中样品 6	

2. 结合实验条件，解释氨基酸的分离现象。

六、作业与思考

- 1. 纸层析法的主要实验原理是什么？
- 2. 简述纸层析法的主要操作步骤及注意事项。

实验 2 果蔬中维生素 C 的测定

维生素是指为维持人类和动物的正常生理功能所必需的一类微量有机物质。

维生素既不参与人体细胞构成,也不能为人体提供能量,但在机体生长、代谢、发育过程中却发挥着重要作用。维生素 C 属于水溶性维生素,是高等灵长类动物与其他少数生物的必需营养素,在大多数的生物体内可自身合成,但在人体内却不能合成。

在生物体内,维生素 C 是一种抗氧化剂,保护身体免于自由基的威胁,同时它也是一种辅酶。维生素 C 又名抗坏血酸,当人体内缺乏维生素 C 时,羟脯氨酸和赖氨酸的羟基化过程不能顺利进行,胶原蛋白合成受阻,引起坏血病。早期表现为疲劳、倦怠、牙龈肿胀、出血、伤口愈合缓慢等,严重时可出现内脏出血而危及生命。

维生素 C 服用过量会引发疾病。每日服 1~4g 时,可引起胃酸增多、胃液反流、腹泻、皮疹,有时可引起泌尿系结石、尿内草酸盐与尿酸盐排出增多、血管内溶血或凝血等,有时还可导致白细胞的吞噬能力降低。每日用量超过 5g 时,可发生溶血现象,重者可致命。孕妇服用大剂量时,也可能产生婴儿坏血病。

食物中的维生素 C 主要存在于新鲜的蔬菜、水果中。水果中新枣、酸枣、橘子、山楂、柠檬、猕猴桃、沙棘和刺梨含有丰富的维生素 C;蔬菜中绿叶蔬菜、青椒、番茄、大白菜等含量较高。

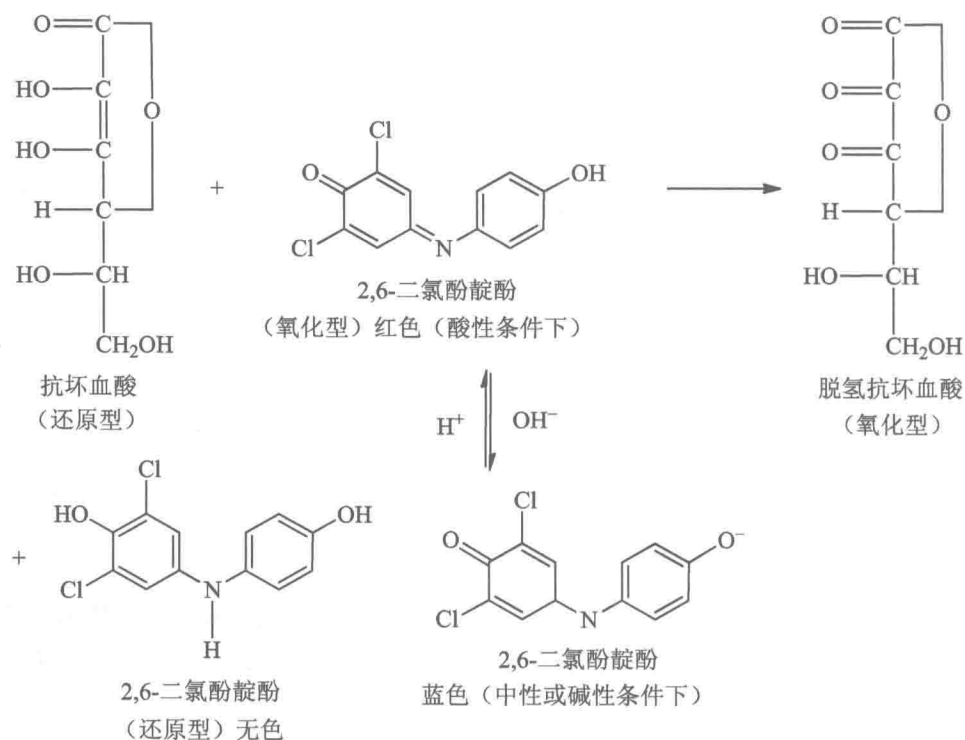
一、实验目的

1. 学习定量测定维生素 C 的原理和方法。
2. 熟悉微量滴定法的基本操作技术。

二、实验原理与内容

维生素 C 具有很强的还原性,在中性和微酸性条件下,能还原 2,6-二氯酚靛酚成无色的还原型 2,6-二氯酚靛酚,同时自身被氧化成脱氢抗坏血酸。

氧化型的 2,6-二氯酚靛酚在酸性溶液中呈粉红色,在中性或碱性溶液中呈蓝色。因此,当用 2,6-二氯酚靛酚滴定含有抗坏血酸的酸性溶液时,在抗坏血酸尚未全部被氧化时,滴下的 2,6-二氯酚靛酚立即反应而呈无色。所以,当溶液从无色转变成微红色时,即表示溶液中的抗坏血酸刚刚全部被氧化,此时即为滴定终点。从滴定时 2,6-二氯酚靛酚标准溶液的消耗量,可以计算出被检测物质中抗坏血酸的含量。



三、实验材料与用品

1. 实验材料：新鲜蔬菜或水果，果汁，维生素 C 片。
2. 实验用品：研钵、漏斗、纱布、锥形瓶 (50mL)、刻度管、容量瓶、微量碱式滴定管、玻璃棒、洗耳球、剪刀、铁架台、天平。
3. 试剂及其配制。
 - (1) 1% 盐酸。
 - (2) 1% 草酸：1g 草酸溶于 100mL 蒸馏水。
 - (3) 2,6-二氯酚醌酚钠溶液：将 50mg 2,6-二氯酚醌酚溶解于约 200mL 含有 52mg 碳酸氢钠的热水中。冷却后，定容至 250mL。配制完毕的溶液需装入棕色瓶，避光、冰箱冷藏保存。2,6-二氯酚醌酚性质不稳定，必须每周重新配制。
 - (4) 标准抗坏血酸溶液 (0.1mg/mL)：准确称取 50mg 抗坏血酸，溶于 1% 草酸，并稀释至 500mL，贮于棕色瓶，临用前配制。

四、实验操作步骤

- (1) 准确称取新鲜蔬菜 (绿色部分) 或水果 (果肉) 5g 放入研钵中，加 1%

盐酸 10~15mL 迅速研磨，放置片刻（约 10min），将提取液滤入 100mL 容量瓶中，如此反复抽提 2~3 次，最后用水补至刻度并混匀。

（2）取上述提取液 10mL 于锥形瓶中，用 5mL 微量碱式滴定管以 0.001mol/L 2, 6-二氯酚靛酚钠溶液进行滴定，滴定至溶液呈现粉红色并保持 0.5min 不褪色时，即达到滴定终点。滴定过程必须迅速，不要超过 2min。滴定过程必须迅速是因为在本滴定条件下，一些维生素 C 还原物质的作用迟缓，快速滴定可以避免或减少它们的影响。

（3）准确吸取新配制的 0.1mg/mL 抗坏血酸标准液 1mL 于锥形瓶中，用 1%草酸稀释至 10mL。用 0.001mol/L 2, 6-二氯酚靛酚溶液同上滴定，记录用去的 2, 6-二氯酚靛酚的体积。计算 1mL 2, 6-二氯酚靛酚溶液相当于多少抗坏血酸。

注意：要使结果准确，滴定使用的 2, 6-二氯酚靛酚应在 1~4mL。若滴定结果超出此范围，则必须增减样品用量。

（4）计算结果：

$$\text{维生素 C 的质量/100g 样品} = \frac{V_1 \times T}{V_2} \times V \times 100 \times \frac{1}{W}$$

式中， V_1 为滴定样品提取液所耗用的 2, 6-二氯酚靛酚的体积（mL）； V_2 为滴定时所取样品提取液的体积（mL）； V 为样品提取液的总体积（mL）； T 为 1mL 2, 6-二氯酚靛酚溶液相当于标准抗坏血酸的质量（mg）； W 为被测样品的质量（g）。

五、实验结果与分析

1. 根据实验滴定结果，计算 100g 实验材料中维生素 C 的含量，填入表 2-1 中。

表 2-1 样品中维生素 C 的含量实验结果

样品名称（ ）	测定值 1	测定值 2	测定值 3	平均值	维生素 C 含量 /(mg/100g 样品)
V_1 /mL					
V_2 /mL					
V /mL					
T /mL					
W /g					

2. 联系生活实际，推荐几种维生素 C 含量丰富的食物。

六、作业与思考

1. 简述维生素 C 在人体中的生物学作用。

2. 了解维生素的分类和主要生理功能。

实验3 蛋白质的沉淀反应

蛋白质是一切细胞和组织的重要成分,人体的肌肉、内脏、神经、血液、骨骼甚至指甲和头发都含有蛋白质,成人体内含蛋白质 16%~19%。身体的生长发育,衰老组织的更新,损伤后组织的修复,都离不开蛋白质。蛋白质具有多种生物学功能,包括催化、调节、运输、储存、运动、防御、支架和供能等。

人体蛋白质始终处于合成与分解的动态平衡过程,每天约有 3%的蛋白质参与更新。人体每天从食物中摄取一定量的蛋白质,在消化道分解成各种氨基酸而被机体吸收,通过血液循环送到身体各组织,合成机体的各种蛋白质,作为构成和修复组织的材料。

一、实验目的

1. 通过实验加深对蛋白质胶体溶液稳定因素的认识。
2. 区分可逆沉淀反应和不可逆沉淀反应,并了解其实用意义。
3. 了解蛋白质变性及沉淀的关系。

二、实验原理与内容

蛋白质是一类高分子化合物,分子大小已达胶体颗粒范围(1~100nm),因此蛋白质在水溶液中具有胶体的性质。维持蛋白质胶体稳定的因素有两个:一是胶体颗粒所带的电荷,二是与介质水形成的水化膜。这种稳定性是有条件的、相对的,在一定物理化学因素影响下,蛋白质颗粒失去电荷、脱水,甚至变性而丧失稳定因素,从溶液中析出,这种作用称为蛋白质的沉淀反应。蛋白质的沉淀反应可分为如下两类。

(1) 可逆沉淀反应:在发生沉淀反应时,蛋白质虽已沉淀析出,但蛋白质分子内部结构并未发生显著变化,基本上保持原有性质,如除去造成沉淀的因素后,蛋白质沉淀可再溶于原来的试剂中。属于此类反应的有盐析作用,在低温下的乙醇或丙酮短时间作用于蛋白质,等电点沉淀蛋白质等。提纯蛋白质时,常用此类反应。

(2) 不可逆沉淀反应:在发生沉淀反应时,蛋白质分子内部结构,特别是空