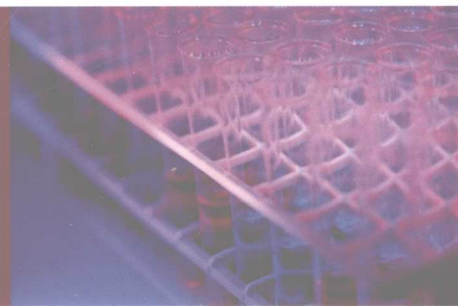
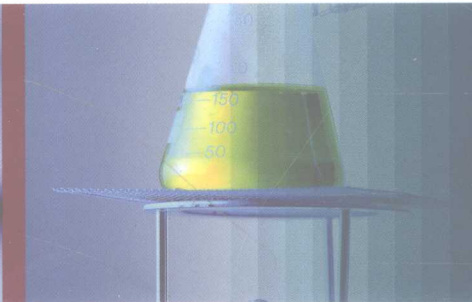




普通高等教育“十二五”重点规划教材

生命科学应用型系列教材



生物化学实验教程

周正义◎主 编



科学出版社

普通高等教育“十二五”重点规划教材

生命科学应用型系列教材

生物化学实验教程

周正义 主编

孙玉军 王松华 副主编

科学出版社

北京

S057021

内 容 简 介

本书分四个部分,第一部分是实验的基础理论部分,包括生物化学须知、生物大分子提取与分离、分光光度法及比色分析法、电泳法技术、层析技术、离心技术、透析技术。第二部分以实验为主体,阐述了常用的基础实验技术、综合性实验、设计性实验。本书的目的是培养学生严谨的科学态度,独立思考以及独立完成实验过程的能力。

本书适用于高等院校的生物科学、生物技术、生物工程、动物科学、农业科学、园艺、食品科学等专业学生使用,也可供相关技术人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

生物化学实验教程/周正义主编. —北京:科学出版社,2012
(普通高等教育“十二五”重点规划教材·生命科学应用型系列教材)
ISBN 978-7-03-034844-9

I. ①生… II. ①周… III. ①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(2012)第127113号

责任编辑:张 斌/责任校对:耿 耘
责任印制:吕春珉/封面设计:东方人华平面设计部

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>

双青印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2012年7月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2012年7月第一次印刷 印张:20 1/4

字数:480 000

定价:34.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈双青〉)

销售部电话 010-62134988 编辑部电话 010-62135235 (HP04)

版权所有,侵权必究

举报电话:010-64030229; 010-64034315; 13501151303

普通高等教育“十二五”重点规划教材·生命科学应用型系列教材
编写委员会

主任 金光明

委员 周正义 范礼斌 韩力 陶瑞松 王慧忠
陶玉贵 胡庆国 吴甘霖 肖家欣 朱世东

前 言

从 1999 年以前精英教育到目前的大众教育, 随着十多年的高等教育事业的改革, 高等教育的普及也带来一系列问题。学生的基础知识和接受能力, 教材的适应性都存在一定问题, 迫切需要一系列改革, 但是目前大多数教材都存在追求高、精、尖的情况, 很多教材不能适应目前的教学要求, 多数都是针对精英教育而编写的, 很多普通院校只能在这些教材中适当选用很少部分内容使用, 大多数只能作为参考资料, 很多教材并不适合于这些院校使用, 目前很多学校需要的教材是既适合教学要求, 又能满足学生的需要的教材, 现在各种教材版本很多, 真正能够适合使用的并不多, 我们希望能够编写一本这样的教材。

本书是为了适应本科应用型高校而编写的, 由于社会的转型需要大量的应用型高级人才, 因此, 应用型高校应运而生, 这种专门型人才既不同于以往的普通高校, 也不同于高职高专, 他既要有普通高校的基础理论, 又要有高职高专的动手技能, 为了适应这一类型人才的教学需求, 我们特编写一套适用于应用型高校的教材。

生物化学是生命科学中的一门重要的专业基础课程, 它的理论体系是在实验基础上建立的, 它既是一门理论课也是一门实验课, 它与许多学科有着密切的联系, 与人的生命活动息息相关, 与医药、食品、环保、能源、工业和农业都有着千丝万缕的联系, 它是 21 世纪的标志性学科。生物化学是生命科学的重要组成部分。

由于应用型高校学制改革由原来的总学时 2500 压缩到目前的 2200 学时, 采用 3+1 模式进行教学, 最后一年的实践教学在工厂或农村的实习基地进行。为了适应这一特殊的教学要求, 我们在教材中增加了大量的基础性和实用性的实验内容, 可供学生在实践过程中选用。

本书共分两个部分: 第一部分是实验的基础理论部分, 阐述了生物化学实验技术发展简史、实验室规则、实验室安全及防护知识、实验记录与实验报告、实验室基本操作、缓冲溶液与 pH 测定、生化实验室的基本设施与装备、生物大分子提取与分离, 详细阐述了各种实验材料的预处理过程和固体材料的破碎过程, 同时也详细阐述了各种方法从材料中提取生物大分子的过程, 以及在提取生物大分子过程中各种环境因素对提取过程的影响; 在层析技术中详细阐述了凝胶层析、离子交换层析、亲和层析和高效液相色谱等技术; 同时也阐述了分光光度计的原理和使用方法; 离心机的原理和使用方法; 电泳技术的原理和应用范围。第二部分又分为三个章节, 第一章节以 40 个基础实验为主体, 阐述了一些常用的基础实验技术, 分为糖、脂、蛋白质、核酸、酶、维生素等实验内容; 第二章节为综合性实验, 主要是 10 个分子生物学的基础实验; 第三章节是设计性实验, 由 4 个实验内容组成, 主要是在同学掌握基础实验的基础上进一步构思一些实验过程比较复杂的完整的实验过程。

本书编写分工如下: 周正义编写第一部分第 1 章、第 2 章、第 5 章, 第二部分实验



1 中的实验 1.7~1.13、1.21、1.25、1.28、1.32~1.35、实验 2 中的实验 2.10、实验 3 中的实验 3.2~3.4；孙玉军编写第一部分第 3 章，第二部分实验 1 中的实验 1.1~1.6、1.20、1.26、实验 3 中的实验 3.1；王松华编写第一部分第 4 章，第二部分实验 2 中的实验 2.41~2.49 和附录的部分内容；张强编写第一部分第 6 章第二部分实验 1 中的实验 1.14、1.15、1.16、1.17、1.27；蒋圣娟编写第二部分实验 1 中的实验 1.29、1.36、1.37、1.38、1.39、1.40；张晓龙编写第二部分实验 1 中的实验 1.18、1.19、1.23、1.24、1.30；马玉涵编写第二部分实验 1 中的实验 1.22、1.31 和附录的部分内容。

本书在编写过程中得到安徽科技学院相关领导的支持和指导，在此深表感谢。

由于本书编写时间仓促，错误在所难免，再加上编者知识水平有限，对于先进的科学技术的理解可能会出现错误和疏漏，竭诚希望广大读者给予批评指正。

目 录

第一部分 生物化学技术概论

1 生物化学须知	3
1.1 生物化学实验技术发展简史	3
1.2 实验室规则	6
1.3 实验室安全及防护知识	8
1.4 实验报告	12
1.5 实验室基本操作	13
1.6 缓冲溶液与 pH 测定	17
1.7 生化实验室的基本设施与装备	24
2 生物大分子提取与分离	29
2.1 实验材料的处理	29
2.2 生物材料处理的常用方法	34
2.3 目的物分离与提取	39
2.4 目的物的沉淀分离	49
2.5 过滤与膜分离技术	58
2.6 溶剂萃取法	64
2.7 反胶束萃取	72
2.8 超临界(流体)萃取	79
3 分光光度法及比色分析法	86
3.1 原理	86
3.2 分光光度计的构造	88
3.3 7220 型分光光度计	89
4 电泳法	92
4.1 电泳的基本原理	92
4.2 影响电泳的主要因素	92
4.3 区带电泳的分类	93
4.4 几种常见的电泳方法	94
5 层析技术	98
5.1 层析技术概述	98
5.2 凝胶层析	105
5.3 离子交换层析	115
5.4 亲和层析	122
5.5 具体的一些层析方法	129



5.6	高效液相色谱	134
6	离心技术	145
6.1	基本原理	145
6.2	离心机的主要构造和类型	146
6.3	离心技术的应用	148
6.4	电动离心机的使用方法及注意事项	150
7	透析	151
7.1	膜	151
7.2	溶剂	151
7.3	物理条件	152
7.4	董南 (Donnan) 膜平衡	152

第二部分 生物化学实验

实验 1	生物化学基础实验	155
实验 1.1	糖类的性质实验 (糖的颜色反应)	155
实验 1.2	糖类的性质实验 (糖的还原作用)	157
实验 1.3	总糖的测定——硫酸蒽酮法	158
实验 1.4	血糖的定量测定	161
实验 1.5	3,5-二硝基水杨酸比色法测定糖的含量	164
实验 1.6	糖的薄层层析	166
实验 1.7	粗脂肪的定量测定——索氏抽提法	171
实验 1.8	脂肪酸的 β -氧化	173
实验 1.9	碘值的测定	174
实验 1.10	酸价的测定	177
实验 1.11	胆固醇的测定	178
实验 1.12	卵磷脂的提取及鉴定	182
实验 1.13	氨基酸的分离鉴定——纸层析法	183
实验 1.14	氨基酸分离——双向层析法	186
实验 1.15	蛋白质的沉淀反应、颜色反应及等电点的测定	189
实验 1.16	双缩脲法测定蛋白质含量	197
实验 1.17	Folin-酚法测定蛋白质含量	199
实验 1.18	微量凯氏定氮法	201
实验 1.19	SDS-PAGE 测定蛋白质分子量	205
实验 1.20	葡聚糖凝胶层析脱盐	212
实验 1.21	醋酸纤维素薄膜电泳分离血清蛋白	215
实验 1.22	血清蛋白质聚丙烯酰胺凝胶电泳	221
实验 1.23	考马斯亮蓝法测蛋白质浓度	224
实验 1.24	紫外吸收法测定蛋白质含量	226
实验 1.25	脲酶 K_m 值简易测定法	229



实验 1.26	正交法测定几种因素对酶活力的影响	231
实验 1.27	琥珀酸脱氢酶的作用及其竞争性抑制	235
实验 1.28	酶的性质及其影响因素	236
实验 1.29	硫酸铵分级沉淀及透析脱盐纯化过氧化氢酶	240
实验 1.30	淀粉酶活力的测定	242
实验 1.31	血清乳酸脱氢酶同工酶测定	245
实验 1.32	酵母核糖酸的提取	250
实验 1.33	RNA 的测定——定磷法	252
实验 1.34	钼酸铵比色法测定 L-抗坏血酸的含量	254
实验 1.35	还原型维生素 C 的测定	256
实验 1.36	总维生素 C 的测定——2,4-二硝基苯肼比色法	259
实验 1.37	维生素 A 的提取及含量测定	262
实验 1.38	胡萝卜素的柱层析分离法	263
实验 1.39	叶绿素含量的测定	266
实验 1.40	细胞色素氧化酶作用及其抑制	267
实验 2	综合性实验	269
实验 2.1	植物基因组 DNA 的提取和浓度测定	269
实验 2.2	植物基因组 DNA 的琼脂糖凝胶电泳	270
实验 2.3	质粒 DNA 的提取和纯化	271
实验 2.4	PCR 基因扩增	273
实验 2.5	总 RNA 的提取	275
实验 2.6	DNA 重组技术——酶切、连接	276
实验 2.7	DNA 重组技术连接	278
实验 2.8	大肠杆菌感受态细胞的制备和转化	279
实验 2.9	重组质粒的筛选	281
实验 2.10	重组质粒的筛选 (抗生素平板筛选和 α 互补筛选)	282
实验 3	设计性实验	285
实验 3.1	双孢菇多糖分离纯化与性质测定	285
实验 3.2	大豆磷脂提取工艺	287
实验 3.3	大豆磷脂的定量测定	288
实验 3.4	植物叶蛋白的提取	289
实验 3.5	植物组织中核酸的提取和测定	292
附录		296
1	清洗液的种类、去污原理及配制方法	296
2	常用核酸蛋白换算数据	296
3	常用表	297
主要参考文献		312

第一部分
生物化学技术概论

1 生物化学须知

1.1 生物化学实验技术发展简史

生物科学在 20 世纪飞速发展, 其中生物化学与分子生物学的进展尤为迅速, 这样一门具有活力和生气的实验科学, 在 21 世纪必将成为最具影响力的学科之一, 这主要依赖于生物化学与分子生物学实验技术的不断发展和完善。本节简单回顾一下生物化学实验技术的发展历史。

1. 生物科学发展简史

1770~1774 年, 英国 J. Priestly 发现了植物的光合作用产生氧气, 并指出动物消耗氧。

1743~1794 年, 法国人 Lavoisier 证明呼吸和燃烧都是将有机物质氧化成为 CO_2 和水。

1770~1786 年, 瑞典人 C. W. Scheele 分离了甘油、柠檬酸、苹果酸、乳酸、尿酸等。

1779~1796 年, 荷兰人 J. Ingenbousz 证明在光照下植物吸收 CO_2 , 并放出 O_2 。

1828 年, 德国化学家 Friedrich Wöhler 在实验室用氰氢氨合成了有机化合物尿素。

1825~1895 年, 德国化学家 Ernst Felix Hoppe-Seyler 首先使用“Biochemistry”一词, 生物化学作为一门新兴科学诞生。

1890 年, 荷兰人 Christian Eijkman 在南洋考察中发现了维生素 B_1 , 并在 1929 年和霍普金斯 (F. G. Hopkins) 一起研究维生素获得诺贝尔生理医学奖金。

1897 年, 德国化学家 Eduard Büchner 在研究发酵中, 发现了酶, 证实不含细胞的酵母提取液也能使糖发酵。

1902 年, 英国生理学家 Bayliss 和 Starling 发现了激素。

1926 年, 美国化学家 J. B. Sumner 首次得到脲酶结晶, 并证明酶是蛋白质。

1830 年, 德国化学家 Liebig 撰写《有机化学在生理学与病理学上的应用》, 提出新陈代谢的概念。

20 世纪 20 年代, 微量分析技术导致了维生素、激素和辅酶等的发现。瑞典著名的化学家 T. Svedberg 发明了“超速离心技术”, 1924 年研制成了第一台 $5000 \times g$ ($5000 \sim 8000 \text{rpm}$) 相对离心力的超速离心机 (相对离心力“RCF”的单位可表示为“ $\times g$ ”), 开创了生化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分子量, 获得了 1926 年的诺贝尔化学奖。

20 世纪 30 年代, 电子显微镜技术打开了微观世界, 使我们能够看到细胞内的结构和生物大分子的内部结构。

20 世纪 40 年代, 层析技术大发展, 两位英国科学家 Martin 和 Synge 发明了分配色谱



(层析)，他们因此获得了 1952 年的诺贝尔化学奖。由此，层析技术成为分离生化物质的关键技术。

电泳技术是由瑞典的著名科学家 Tiselius 发明，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。

20 世纪 50 年代，1935 年 Schoenheimer 和 Rittenberg 首次将放射性同位素示踪用于碳水化合物及类脂物质的中间代谢的研究以后，“放射性同位素示踪技术”在 50 年代有了大的发展，为各种生物化学代谢过程的阐明起了决定性的作用。

20 世纪 60 年代，各种仪器分析方法用于生物化学研究，取得了很大的发展，如 HPLC 技术，红外、紫外、圆二色等光谱技术，NMR 核磁共振技术等。1958 年 Stem、Moore 和 Spackman 设计出氨基酸自动分析仪，大大加快了蛋白质的分析工作。1967 年 Edman 和 Begg 制成了多肽氨基酸序列分析仪，到 1973 年 Moore 和 Stein 设计出氨基酸序列自动测定仪，又大大加快了对多肽一级结构的测定，十多年间氨基酸的自动测序工作得到了很大的发展和完善。

1962 年，美国科学家 Watson 和英国科学家 Crick 因为在 1953 年提出的 DNA 分子反向平行双螺旋模型而与英国科学家 Wilkins 分享了当年的诺贝尔生理医学奖，后者通过对 DNA 分子的 X 射线衍射技术，研究证实了 Watson 和 Crick 的 DNA 模型，他们的研究成果开创了生物科学的历史新纪元。在 X 射线衍射技术方面，英国物理学家 Perutz 对血红蛋白的结构进行 X 射线结构分析，Kendrew 测定了肌红蛋白的结构，成为研究生物大分子空间立体结构的先驱，他们同获 1962 年诺贝尔化学奖。

此外，在 60 年代，层析和电泳技术又有了重大的进展，在 1968~1972 年 Anfinsen 创建了亲和层析技术，开辟了层析技术的新领域。1969 年 Weber 应用 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳技术测定了蛋白质的分子量，使电泳技术取得了重大进展。

20 世纪 70 年代，基因工程技术取得了突破性的进展，Arber、Smith 和 Nathans 三个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，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，出现了 DNA 序列测定仪、DNA 合成仪等。

20 世纪 80~90 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 分别设计出两种测定 DNA 分子内核苷酸序列的方法，而与 Berg 共获诺贝尔化学奖，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。他们 3 人在 DNA 重组和 RNA 结构研究方面都作出了杰出的贡献。

1981 年由 Jorgenson 和 Lukacs 首先提出的高效毛细管电泳技术 (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、医学和化学等学科的科学工作者的极大重视，发展极为迅速，是生化实验技术和仪器分析领域的重大突破，意义深远。现今，由于 HPCE 技术的异军突起，HPLC 技术的发展重点已转到



制备和下游技术。

1984年德国科学家 Kohler、美国科学家 Milstein 和丹麦科学家 Jerne 由于发展了单克隆抗体技术，完善了极微量蛋白质的检测技术而获得了诺贝尔生理学奖。

1985年美国加利福尼亚州 Cetus 公司的 Mullis 等发明了 PCR 技术 (polymerase chain reaction)，即聚合酶链式反应的 DNA 扩增技术，对于生物化学和分子生物学的研究工作具有划时代的意义，因而与第一个设计基因定点突变的 Smith 共享 1993 年的诺贝尔化学奖。

2. 生物化学发展简史

除上述生物科学发展历史成就以外，还有许多生物化学发展史上的重要成就。

1950年，美国化学家 Pauling 和 Corey 提出了 α -角蛋白的 α -螺旋结构模型，对蛋白质一级结构和空间结构都有了新的认识。确认氢键在蛋白质结构中以及生物大分子间相互作用的重要性等，他获得了诺贝尔化学奖。

英籍德裔生物化学家 Hans Krebs，在 1937 年发现了三羧酸循环和阐明合成尿素的鸟氨酸循环，对细胞代谢及分子生物学的研究作出了重要贡献，他与美籍德裔生物化学家 Fritz Lipmann 因发现辅酶 A 及其中间代谢作用而共获 1953 年诺贝尔生理学奖。

英国生物化学家 Sanger 还于 1953 年确定了牛胰岛素中氨基酸的精确顺序而获得 1958 年的诺贝尔化学奖。

1959年，美籍西班牙裔科学家 Uchoa 发现了细菌的多核苷酸磷酸化酶，研究并重建了将基因内的遗传信息通过 RNA 中间体翻译成蛋白质的过程。他和 Kornberg 分享了当年的诺贝尔生理学奖，而后者的主要贡献在于实现了 DNA 分子在细菌细胞和试管内的复制。

美国生物化学家 Nirenberg 在破译遗传密码方面作出了重要贡献，因合成了核酸，揭开了遗传密码的奥秘而获得 1968 年诺贝尔生理学医学奖。

Holly 阐明了酵母丙氨酸 tRNA 的核苷酸排列顺序，后来证明所有 tRNA 的结构均相似。美籍印度裔生物化学家 Khorana 曾合成了精确结构的已知核酸分子，并首次人工制成酵母基因。他们 3 人共同获 1968 年诺贝尔生理学医学奖。

法国生物学家 Lwoff、Jacob 和生物化学家 Monod 由于在病毒 DNA 和 mRNA 等方面出色的大量研究工作而共获 1965 年诺贝尔生理学医学奖。

1988年，美国遗传学家 Mc. Clintock 由于在 20 世纪 50 年代提出并发现了可移动的遗传因子而获得诺贝尔生理学医学奖。

1989年，美国科学家 Altman 和 Cech 由于发现某些 RNA 具有酶的功能（称为核酶）而获得诺贝尔化学奖。

1993年，美国科学家 Roberts 和 Sharp 由于在断裂基因方面的工作而荣获诺贝尔生理学医学奖。

1994年，美国科学家 Gilman 和 Rodbell 由于发现了 G 蛋白在细胞内信息传导中的作用而获得诺贝尔生理学医学奖。

1995年，美国科学家 Lewis、德国科学家 Nusslein-Volhard 和美国科学家 Wie-



schaus 由于在 20 世纪 40~70 年代先后独立鉴定了控制果蝇体节发育基因而共享诺贝尔生理医学奖。

3. 我国生物化学发展

我国生物化学界的先驱吴宪教授在 20 世纪 20 年代初由美国回国后,在协和医科大学生化系与汪猷、张昌颖等人一道完成了蛋白质变性理论、血液生化检测和免疫化学等一系列有重大影响的研究。

1948 年郑集教授约林国镛、万昕等倡议组织中国生物化学会,并推万昕、林国镛、李缵文、郑集、林枝模、刘思职、蓝天鹤等 7 人为筹备委员,但当时正值解放战争,兵马匆忙,学会虽未正式成立,但已有萌芽。新中国成立前我国没有一本中文的生物化学教科书和实验教程,在 20 世纪 20 年代,齐鲁大学江清、李缵文、鲁德馨等翻译了良氏(Conant)生物化学教科书,由上海博医会出版,但未被普遍采用。各院校生物化学系,除编写生物化学实验教程外,多采用课堂口讲笔记法。北京协和医学院、华西大学均用英文编写了暂用的生物化学实验教程。1938 年郑集编写了《生物化学实验手册》(A Laboratory Manual of Biochemistry),正式在成都华英书局出版。这是我国第一本自编的生物化学原理,也是我国第一本生物化学参考书。

1965 年我国化学和生物化学家用化学方法在世界上首次人工合成了具有生物活性的结晶牛胰岛素,在 1973 年用 1.8\AA X 射线衍射分析法测定了牛胰岛素的空间结构,为认识蛋白质的结构做出了重要贡献,1983 年又通过大协作完成了酵母丙氨酸转移核糖核酸的人工合成。近年来,我国在酶学研究、蛋白质结构及生物膜的结构与功能等方面都有举世瞩目的研究成果。

由近百年来生物化学及其实验技术的发展史可以看出,学科的发展与实验技术的发展密切相关,每一种新的生化物质的发现与研究都离不开实验技术,实验技术每一次新的发明都大大推动了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,尤其是生物化学工作者,学习并掌握各种生物化学实验技术极为重要。

1.2 实验室规则

1.2.1 实验目的

- (1) 培养学生科学的作风、独立工作的能力及科学的思维方法。
- (2) 学习基础的生物化学实验方法,为今后的学习与研究打好基础。
- (3) 培养学生爱护国家财物、爱护集体、团结互助的优良道德品质。
- (4) 培养学生的书面及口头表达能力。

1.2.2 实验的总要求

(1) 按预先公布的实验进程表,了解每次实验的具体内容,实验前必须认真预习实验内容,明确本次实验的目的和要求。掌握实验原理,写好实验预习报告,弄清实验各步



骤的意义。避免在实验过程中不知如何做试验,或者看一步实验指导,做一步实验,甚至自己不做实验只看别人做实验,不会使用实验仪器。因此,未预习者不得进实验室。

(2) 实验时自觉遵守实验室纪律,保持室内安静,不大声说笑和喧哗。

(3) 实验过程中要听从教师指导,认真按照实验步骤和操作规程进行实验。若想改进和设计新的实验方法,必须取得教师的同意。实验时认真进行实验记录,实验完毕及时整理数据,按时上交实验报告。

(4) 实验台面、称量台、药品架、水池以及各种实验仪器内外,都必须保持清洁整齐。药品称完后立即盖好瓶盖放回药品架,严禁瓶盖及药勺混杂,切勿使药品(尤其是 NaOH 等)洒落在天平和实验台面上。毛刷用后必须立即挂好,各种器皿不得丢弃在水池内。

(5) 配制试剂和使用无离子水要注意节省,按实验实际使用量配制,多余的重要试剂和各种有机试剂,要按教师要求进行回收。昂贵的 Sephadex、Sephrose 凝胶和 DE-AE 纤维素等,用后必须及时回收,不得丢弃。

(6) 配制的试剂和实验过程中的样品,尤其是保存在冰箱和冷室中的样品,必须贴上标签、写上品名、浓度、姓名和日期等。放在冰箱中的易挥发溶液和酸性溶液,必须严密封口。

(7) 配制和使用洗液,必须极为小心,强酸强碱必须倒入废液缸或冲稀后排放。电泳后的凝胶和各种废物不得倒入水池,只能倒入废物桶。

(8) 使用贵重精密仪器,应严格遵守操作规程。使用分光光度计时,不得将溶液洒在仪器内外和地面上。使用高速冷冻离心机和 HPLC 等大型仪器,必须经过考核。仪器发生故障,应立即报告教师,未经许可不得自己随意检修。

(9) 在实验过程中观察要仔细,记录要详尽、及时、客观,不得于实验后追记。应直接记在实验报告本中,而且无论实验成功与失败,都应记下。对于失败的实验,要分析其原因。

(10) 实验室内严禁吸烟、饮水和进食,严禁用嘴吸移液管和虹吸管。易燃液体不得接近明火和电炉,凡产生烟雾、有害气体和不良气味的实验,均应在通风条件下进行。

(11) 实验完毕必须及时洗净并放好各种玻璃仪器,插好自动部分收集器上的试管,保持实验台面和实验柜内的整洁。

(12) 每组的仪器和玻璃器皿要用油漆编号,严禁抢拿他组仪器,不得将器皿遗弃在分光光度计内和其他实验台面上。打破玻璃仪器要及时向教师报告,并自觉登记,学期结束时按规定进行处理。

(13) 每位学生要熟悉实验室内电闸的位置,烘箱和电炉用毕必须立即断电,不得过夜使用,要严格遵守实验室安全用电规则和其他安全规则。

(14) 每日实验完毕,值日生要认真做好实验室的卫生清扫工作。最后离开实验室的实验人员,必须检查并关好水、电、门、窗。

1.2.3 组织与分组

(1) 每一实验室推选学生课代表一名,负责下列工作:①实验报告的收集与分发;②安



排清扫值日生名单；③反映同学学习情况以及对教学工作的意见；④其他临时性的工作。

(2) 一般实验为每个学生单独进行，有些实验要两人一组，由相邻两学生组成固定小组。小组的成员在指导教师的同意下，可作适当的调整。

1.2.4 仪器

(1) 每次实验前，实验者应根据公布的本实验使用的仪器种类与数目，检查分发给在实验桌上的各种仪器，如有缺损，应于清洗前向负责老师要求补换。实验中如有破损，则必须登记，按规定处理。实验后应将完整仪器洗涤清洁，点交管理人员。

(2) 公用仪器（包括贵重仪器，如分光光度计、电动离心机等）使用时间不宜过长，以免妨碍他人工作。设有使用登记簿的仪器，使用后必须登记。对于不熟悉的仪器，切勿随意乱动，应主动请教指导教师。

1.2.5 试剂

(1) 每2~4人合用一份试剂，在一般情况下，使用的试剂应该固定。

(2) 取试剂瓶塞与量取用具（如吸管或滴管）不应分开，用后应立即放回原处，量取用具应按规定放置。瓶塞与量具一旦弄错，试剂即受损坏、污染，实验就可能失败。

(3) 标准试剂不应用潮湿之吸管与之直接接触，取出后不得再放入原瓶。

1.2.6 玻璃仪器的洗涤

一般玻璃仪器用洗衣粉或去污粉，以毛刷洗涤即足以满足要求。洗后应将洗衣粉或去污粉仔细冲掉，将水倾去后，器壁不挂水珠视为合格。铬酸洗液仅用于毛刷不能洗净的仪器，切勿滥用洗涤普通玻璃仪器。使用铬酸洗液时，仪器应干燥；过多的水分将使洗液迅速失效。用过的铬酸洗液需加以保存，以备反复使用，直至变为绿色后方可舍弃，其舍弃法与浓硫酸液相同。用洗液浸洗过的玻璃仪器，应先用自来水冲洗，然后再用蒸馏水或去离子水清洗。清洗时，宜采用“少量多次”原则，以节约蒸馏水，同时提高清洗效率。

1.2.7 废弃物的处理

废弃物必须依照其性质作适当处理。以免造成实验材料的浪费，损坏水槽及下水管道，或污染实验环境。

(1) 所有固体废弃物（例如用过的滤纸、损坏的软木塞、纱布及橡皮物、玻璃碴、火柴梗等），必须放入废物筒或篓中，切勿丢入水槽中。

(2) 废硫酸或洗液应先倾入大量水中，再倒入水槽中，并以大量水冲走。

(3) 实验完成后的沉淀或混合物，若含有可提取或回收的贵重物品，不可随意舍弃，应放入教师指定的回收器中。

1.3 实验室安全及防护知识

在生化实验室中，着火、爆炸、中毒、触电和割伤的危险时刻存在。因此每一位在