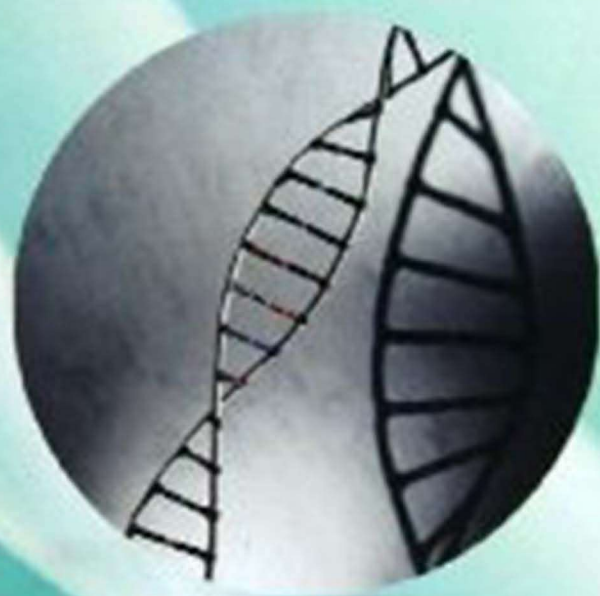


高职高专药学类专业实训教材

# 生物化学实训

SHENGWU HUAXUE SHIXUN

闫波 杜江 主编



华东理工大学出版社

高职高专护理专业实训教材

# 生物化学实训

主 编 杜 江 闫 波

副主编 胡艳妹

编 者(以姓氏笔画为序)

闫波(安徽医学高等专科学校)

杜江(合肥职业技术学院)

陈传平(皖西卫生职业学院)

迟雅璠(宣城职业技术学院)

胡艳妹(铜陵职业技术学院)



东南大学出版社  
SOUTHEAST UNIVERSITY PRESS

· 南京 ·

## 图书在版编目(CIP)数据

生物化学实训 / 杜江, 闫波主编. —南京: 东南大学出版社, 2014. 1

高职高专护理专业实训教材 / 王润霞主编

ISBN 978-7-5641-4631-3

I. ①生… II. ①杜… ②闫… III. ①生物化学—高等教育—教材 IV. ①Q5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 263280 号

## 生物化学实训

---

出版发行 东南大学出版社  
出 版 人 江建中  
社 址 南京市四牌楼 2 号  
邮 编 210096  
经 销 江苏省新华书店  
印 刷  
开 本 787 mm×1 092 mm 1/16  
印 张 4.75  
字 数 120 千字  
版 次 2014 年 1 月第 1 版 2014 年 1 月第 1 次印刷  
书 号 ISBN 978-7-5641-4631-3  
定 价 12.00 元

---

\* 本社图书若有印装质量问题, 请直接与营销部联系, 电话: 025—83791830。

# 高职高专护理专业实训教材编审委员会

## 成 员 名 单

主 任 委 员:陈命家

副主任委员:方成武 王润霞 余建华 程双幸  
张伟群 曹元应 韦加庆 张又良  
王 平 甘心红 朱道林

编委会成员:(以姓氏笔画为序)

王家乐 齐永长 孙景洲 刘 文  
李家林 闫 波 杜 江 余江萍  
陈素琴 胡捍卫 侯 晞 常 青  
葛 虹 童晓云 潘正群

秘 书 组:周建庆 胡中正

# 生物化学实训



## 序

《教育部关于“十二五”职业教育教材建设的若干意见》(教职成[2012]9号)文中指出:“加强教材建设是提高职业教育人才培养质量的关键环节,职业教育教材是全面实施素质教育,按照德育为先、能力为重、全面发展、系统培养的要求,培养学生职业道德、职业技能、就业创业和继续学习能力的重要载体。加强教材建设是深化职业教育教学改革的有效途径,推进人才培养模式改革的重要条件,推动中高职协调发展的基础工程,对促进现代化职业教育体系建设、切实提高职业教育人才培养质量具有十分重要的作用。”按照教育部的指示精神,在安徽省教育厅的领导下,安徽省示范性高等职业技术学院合作委员会(A联盟)医药卫生类专业协作组组织全省10余所有关院校编写了《高职高专药学类实训系列教材》(共16本)和《高职高专护理类实训系列教材》(13本),旨在改革高职高专药学类专业和护理类专业人才培养模式,加强对学生实践能力和职业技能的培养,使学生毕业后能够很快地适应生产岗位和护理岗位的工作。

这两套实训教材的共同特点是:

1. 吸收了相关行业企业人员参加编写,体现行业发展要求,与职业标准和岗位要求对接,行业特点鲜明。
2. 根据生产企业典型产品的生产流程设计实验项目。每个项目的选取严格参照职业岗位标准,每个项目在实施过程中模拟职场化。护理专业实训分基础护理和专业护理,每项护理操作严格按照护理操作规程进行。
3. 每个项目以某一操作技术为核心,以基础技能和拓展技能为依托,整合教学内容,使内容编排有利于实施以项目导向为引领的实训教学改革,从而强化了学生的职业能力和自主学习能力。
4. 每本书在编写过程中,为了实现理论与实践有效地结合,使之更具有

实践性,还邀请深度合作的制药公司、药物研究所、药物试验基地和具有丰富临床护理经验的行业专家参加指导和编写。

5. 这两套实训教材融合实训要求和岗位标准使之一体化,“教、学、做”相结合。在具体安排实训时,可根据各个学校的教学条件灵活采用书中体验式教学模式组织实训教学,使学生在“做中学”,在“学中做”;也可按照实训操作任务,以案例式教学模式组织教学。

成功组织出版这两套教材是我们通过编写教材促进高职教育改革、提高教学质量的一次尝试,也是安徽省高职教育分类管理和抱团发展的一项改革成果。我们相信通过这次教材的出版将会大大推动高职教育改革,提高实训质量,提高教师的实训水平。由于编写成套的实训教材是我们的首次尝试,一定存在许多不足之处,希望使用这两套实训教材的广大师生和读者给予批评指正,我们会根据读者的意见和行业发展的需要及时组织修订,不断提高教材质量。

在教材编写过程中,安徽省教育厅的领导给予了具体指导和帮助,A联盟成员各学校及其他兄弟院校、东南大学出版社都给予大力支持,在此一并表示诚挚的谢意。

安徽省示范性高等职业院校合作委员会  
医药卫生协作组

# 生物化学实训



## 前言

本书为《生物化学》教材的配套辅导材料,除了可供高职高专学生使用外,也可供其他层次相关专业的学生使用。《生物化学实验指导》的编写指导思想是:配合理论教学,注重学生对生物化学的基本理论、基本知识、基本技能的学习,注重职业素养的培养。职业素养有两个方面,一个是通用素养,一个是专业素养。通用素养如良好的工作、劳动习惯的灌输;专业素养是利用专业技能解决实际问题的能力。

本书按照“课程标准”,既要考虑到“本门课程”在整个“护理专业教学”中的地位、目标,注意与已经学习的前承课程的知识与技能的衔接,也要考虑到后续课程知识与技能的需要,合理确定教材的内容。本书体现了“新知识”、“新技术”、“新工艺”、“新方法”,也注意了与职业标准的对接(针对岗位、课证融合)。

本书以生物化学技术为主线,以培养具有严谨的科学态度、实践能力较强的护理人才为目标,精选应用性强、技术性高、代表性好的实验项目,并在项目后附上相应的案例分析、思考题及评分标准,旨在打造一本适应新时期护理类专业需要的精品教材。

本书的特色是:体现了高职高专教育与改革的思想,提出了以技术和能力培养为主线,构建了基本技能、综合应用和设计创新三大实验模块。

本教材由长期从事高职高专生物化学教学和临床一线实践工作的教师共同编写,力争成为一本最能符合高职高专实践教学的精品教材。但由于作者水平有限,难免有不足之处,敬请同行专家和读者提出宝贵意见。

编者  
2013年8月

# 目录

|        |                                    |      |
|--------|------------------------------------|------|
| 实训一    | 微量移液器的使用 .....                     | (1)  |
| 实训二    | 血清蛋白质醋酸纤维素薄膜电泳 .....               | (6)  |
| 实训三    | 酶的专一性 特异性 .....                    | (11) |
| 实训四    | 酶活性的影响因素 .....                     | (14) |
| 实训五    | <b>721</b> 紫外-可见光分光光度计的使用 .....    | (18) |
| 实训六    | 血清总蛋白( <b>TP</b> )测定(双缩脲比色法) ..... | (23) |
| 实训七    | 血清清蛋白测定(溴甲酚绿法) .....               | (26) |
| 实训八    | 血糖测定(葡萄糖氧化酶法) .....                | (29) |
| 实训九    | 全血葡萄糖测定(血糖仪法) .....                | (33) |
| 实训十    | 血清总胆固醇测定 .....                     | (38) |
| 实训十一   | 血清总胆红素及直接胆红素的测定 .....              | (41) |
| 实训十二   | 连续监测法测定血清丙氨酸氨基转移酶 .....            | (46) |
| 实训十三   | 钠、钾、氯离子测定 .....                    | (50) |
| 实训十四   | 血清尿素测定(脲酶-波氏比色法) .....             | (54) |
| 实训十五   | 血清肌酐测定 .....                       | (58) |
| 附录     | 常见生物化学标本采集及其注意事项 .....             | (61) |
| 主要参考文献 | .....                              | (65) |

# 实训一 微量移液器的使用

## 实训目的

1. 通过本实验掌握微量移液器的使用方法。
2. 能够熟悉微量移液器使用过程中的注意事项。
3. 知道微量移液器的基本结构。

## 实训内容

### 一、实训相关知识介绍

微量移液器是一种移取微量液体的新型实验工具,微量移液器相对其他液体吸取工具(量筒、移液管),具有快速、准确、微量等特点。常见类型有:手动单通道、手动多通道、电动单通道、电动多通道(图 1-1)。实验室中常用的多为手动单通道。



图 1-1 微量移液器常见类型

常用的手动单通道移液器的量程有  $0.1\sim 1\ \mu\text{l}$ 、 $0.5\sim 10\ \mu\text{l}$ 、 $2\sim 20\ \mu\text{l}$ 、 $5\sim 50\ \mu\text{l}$ 、 $10\sim 100\ \mu\text{l}$ 、 $20\sim 200\ \mu\text{l}$ 、 $25\sim 250\ \mu\text{l}$ 、 $100\sim 1\ 000\ \mu\text{l}$ 、 $500\sim 5\ 000\ \mu\text{l}$  等多种,使用时根据需求选择最佳的量程。微量移液器的结构包括主体部分(塑料外壳)、调节部分(取液及刻度调节按钮)、褪管部分(卸吸头按钮)和吸嘴(吸嘴另配)。

## 二、微量移液器的使用步骤

正确的手持姿势是使用好微量移液器的前提和基础,一般以右手持移液器,呈握状,大拇指按压刻度调节按钮(图 1-2)。



图 1-2 微量移液器握法

微量移液器的使用步骤包括:吸头的选择及安装、容量设定、预洗吸头、吸液、放液、卸掉吸头及还原。

1. 吸头的选择及安装 不同量程的微量吸液器,其吸头不完全相同,使用时首先要选择合适的吸头。正确的安装方法叫旋转安装法,具体方法是:把移液器顶端插入吸头(无论是散装吸头还是盒装吸头都一样),在轻轻用力下压的同时,左右微微转动,上紧即可(图 1-3)。

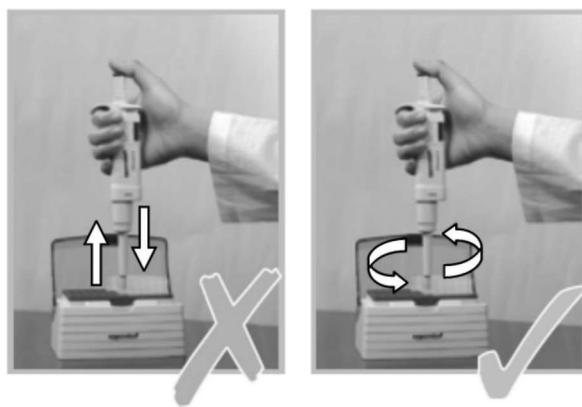


图 1-3 旋转安装法

切记用力不能过猛,更不能采取剥吸头的方法来进行安装,因为这样会导致移液器的内部配件(如弹簧)因敲击产生的瞬时撞击力而变得松散,甚至会导致刻度调节旋钮卡住,严重情况下会将吸头折断。

2. 容量设定 调节微量吸液器上端的调节杆即可调整到所需的容量,调解时若从大

体积调节至小体积时,为正常调节法,调节到刚好就行;若从小体积调节至大体积时,就需要先调节超过设定体积的刻度,再回调至设定体积,可保证最佳的精确度(图 1-4)。

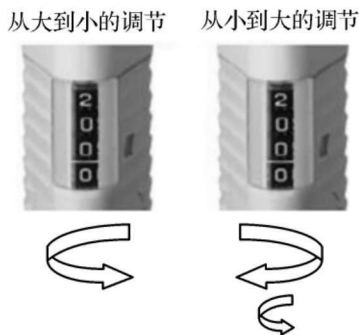


图 1-4 容量设定

3. 预洗吸头 安装了新的吸头或增加了容量值以后,应该把需要转移的液体吸取、排放 2~3 次,这样做是为了让吸头内壁形成一道同质液膜,确保移液工作的精度和准确度,使整个移液过程具有极高的重现性。

在吸取有机溶剂或高挥发液体时,挥发性气体会在吸头内形成负压,从而产生漏液的情况,这时需要我们预洗 4~6 次,让吸头内的气体达到饱和,负压就会自动消失。

黏稠液体可以通过吸头预润湿的方式来达到精确移液。先吸入样液,打出,吸头内壁会吸附一层液体,使表面吸附达到饱和,然后再吸入样液,最后打出液体的体积会很精确。

4. 吸液 先将移液器排放按钮按至第一停点,再将吸头垂直浸入液面,浸入的深度为:P2、P10 小于或等于 1 mm;P20、P100、P200 小于或等于 2 mm;P1 000 小于或等于 3 mm;P5 ML、P10 ML 小于或等于 4 mm。吸液后平稳松开按钮,切记不能过快。

5. 放液 放液时,吸头紧贴容器壁,先将排放按钮按至第一停点,略停顿 1~2 秒后,再按至第二停点,这样做可以保证吸头内无残留液体。

6. 卸掉吸头 轻按卸吸头按钮,即可将吸头卸下,卸掉的枪头一定不能和新吸头混放,以免产生交叉污染。

7. 还原 微量移液器使用完毕后应当将量程调至最大后放置原位,让弹簧恢复原形,延长移液器的使用寿命。

### 三、使用微量移液器的注意事项

1. 吸液时,移液器本身不能倾斜。
2. 装配吸头时,不能用力过猛,导致吸头难以脱卸。
3. 不能平放带有残余液体吸头的移液器。
4. 不能用大量程的移液器移取小体积样品。
5. 移液器不得移取有腐蚀性的溶液,如强酸、强碱等。

6. 如有液体进入枪体,应及时擦干。
7. 移液器应轻拿轻放。
8. 定期对移液器进行校准。

#### 四、实训所需仪器与材料

50~250  $\mu\text{l}$  微量移液器 1 把、配套吸头若干、试管 2 支、试管架一个、血清 1 ml。

#### 五、实施要点

按照上述操作方法分别移取 50  $\mu\text{l}$  和 250  $\mu\text{l}$  血清至所备试管中,注意移液器的拿法、移液姿势及相关的注意事项。

#### 实训思考

1. 若微量移液器的吸头浸入液面的深度过大,会对吸样产生什么影响?
2. 吸液过程中若移液器发生倾斜,会对吸液量产生什么影响?

#### 知识拓展

微量移液器有多种型号,在一般实验室中比较常用的为手动单通道移液器,有些实验室需要使用多通道移液器。多通道移液器通常为 8 通道或 12 通道,与  $8 \times 12 = 96$  孔微孔板一致。多通道移液器的使用不但可减少实验操作人员的加样操作次数,而且可提高加样的精密度。电子移液器和分配器为半自动加样系统,电子移液器最大的优点是具有很高的加样重复性,应用范围广。



微量移液器使用评分标准

班级：                  姓名：                  学号：                  得分：

| 项目              |                | 分值 | 操作实施要点                                          | 得分 |
|-----------------|----------------|----|-------------------------------------------------|----|
| 课前素质要求<br>(8 分) |                | 8  | 着装整洁并穿白大褂,有实训预习报告                               |    |
| 操作过程            | 操作前准备<br>(6 分) | 2  | 微量移液器的检查:结构完整,吸头配套                              |    |
|                 |                | 4  | 其他物品准备:齐全、完好(如果缺少而未报告,扣 1 分)                    |    |
|                 | 操作中<br>(60 分)  | 4  | 手持微量移液器正确                                       |    |
|                 |                | 4  | 正确安装吸头                                          |    |
|                 |                | 4  | 正确调节吸液量 100 $\mu\text{l}$                       |    |
|                 |                | 12 | 持移液器,保持移液器垂直,预洗吸头三次                             |    |
|                 |                | 12 | 将移液器排放按钮按至第一停点,再将吸头浸入待吸液,注意浸入深度,然后缓慢放开大拇指,完成吸样  |    |
|                 |                | 12 | 将吸头紧贴放液试管壁,先将排放按钮按至第一停点,略停顿 1~2 秒后,再按至第二停点,完成放液 |    |
|                 |                | 2  | 轻按卸吸头按钮,将吸头卸入废液缸内                               |    |
|                 |                | 4  | 将量程调至最大后放置原位                                    |    |
|                 |                | 6  | 将移液器量程调至 500 $\mu\text{l}$ ,同上步骤再完成一次           |    |
|                 | 操作后整理<br>(6 分) | 6  | 台面整理,仪器清洗                                       |    |
| 评 价(20 分)       |                | 20 | 态度认真,姿势自然,操作流畅                                  |    |
| 总 分             |                |    |                                                 |    |

# 实训二 血清蛋白质醋酸纤维素薄膜电泳

## 实训目标

1. 通过对血清蛋白电泳的操作,掌握电泳操作程序、技术要领。
2. 能够熟悉血清蛋白醋酸纤维素薄膜电泳的原理、图谱的含义及临床意义。
3. 理解案例中的有关临床知识。

## 实训内容

### 一、实验原理

蛋白质是一种两性电解质,在 pH 小于其等电点的溶液中,蛋白质为阳离子,在电场中向负极移动;在 pH 大于其等电点的溶液中,蛋白质为阴离子,在电场中向正极移动。血清中含有数种蛋白质,它们所具有的可解离基团不同,在同一种 pH 的溶液中所带净电荷不同,因此可用点样方法将它们分离。血清中含有白蛋白、 $\alpha$ -球蛋白、 $\beta$ -球蛋白、 $\gamma$ -球蛋白等,各种蛋白质由于相对分子质量、等电点及形状不同,在电场中迁移速度不同,由表 2-1 可知,5 种蛋白质的等电点大部分 pH 小于 7.0,所以在 pH 为 8.6 的缓冲液中它们都电离成阴离子,在电场中向正极移动。

表 2-1 血清蛋白质理化常数

| 名称              | 等电点       | 相对分子质量          |
|-----------------|-----------|-----------------|
| 白蛋白             | 4.88      | 69 000          |
| $\alpha_1$ -球蛋白 | 5.06      | 200 000         |
| $\alpha_2$ -球蛋白 | 5.06      | 300 000         |
| $\beta$ -球蛋白    | 5.12      | 90 000~150 000  |
| $\gamma$ -球蛋白   | 6.85~7.50 | 156 000~300 000 |



## 二、实验器材

醋酸纤维薄膜(2 cm×8 cm);人血清;烧杯及培养皿数只;点样器;镊子;玻璃棒;恒温水浴锅;电泳槽;直流稳压电泳仪。

## 三、实验试剂

1. 巴比妥缓冲液(pH 8.6) 取巴比妥 2.76 g 溶于 800 ml 左右的蒸馏水中(可加热助溶),加巴比妥钠 15.45 g,溶解后加蒸馏水到 1 000 ml。

2. 氨基黑 10B 染液 称取氨基黑 10B 0.1 g,溶于 20 ml 无水乙醇中,加冰醋酸 5 ml、甘油 0.5 ml,使其溶解。另取碘基水杨酸 2.5 g,溶于 74.5 ml 蒸馏水中。将两种液体混匀使用。

3. 漂洗液 冰醋酸 5 ml、95%乙醇 45 ml、蒸馏水 50 ml,混匀。

## 四、实验步骤

1. 薄膜浸泡 提前将醋酸纤维素薄膜浸泡 30 分钟以上。

2. 电泳仪检查 水平检查,电源检查。

3. 电泳槽准备 在两个电极槽中,各倒入等体积的电极缓冲液。将滤纸条对折翻过来,用电极缓冲液完全浸湿,架在电泳槽的四个膜支架上,使滤纸一边的长边与支架前沿对齐,另一端浸入电泳缓冲液中。用玻璃棒轻轻挤压在膜支架上的滤纸,以驱逐气泡,使滤纸一端能紧贴在膜支架上。滤纸条是两个电极槽联系醋酸纤维素薄膜的桥梁,故称为滤纸桥。

4. 点样 把浸泡好的醋酸纤维素薄膜取出,用滤纸吸去表面多余液体,毛面向上,然后平铺在滤纸上,用点样片蘸取适量新鲜血清,在膜条一端 1.5~2 cm 处轻轻地水平落下并迅速提起,即在膜条上点上了淡黄色细条状的血清样品(图 2-1)。

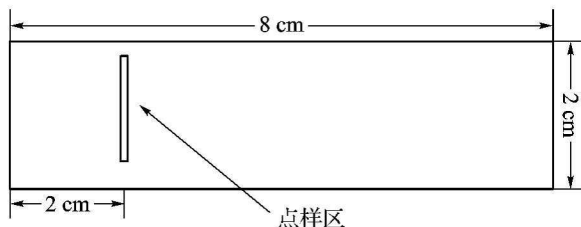


图 2-1 醋酸纤维素薄膜规格及点样位置

5. 电泳 用镊子将点样端的薄膜平贴在负极电泳槽支架的滤纸槽上(点样面朝下,且点样线不可接触电极),另一端平贴在正极端支架上,用镊子将气泡赶走。要求薄膜紧贴滤纸桥并绷直,中间不能下垂。盖上电泳槽盖,平衡 5 分钟,接通电源,调节电压到 120~160 V,电泳 40~50 分钟(图 2-2)。

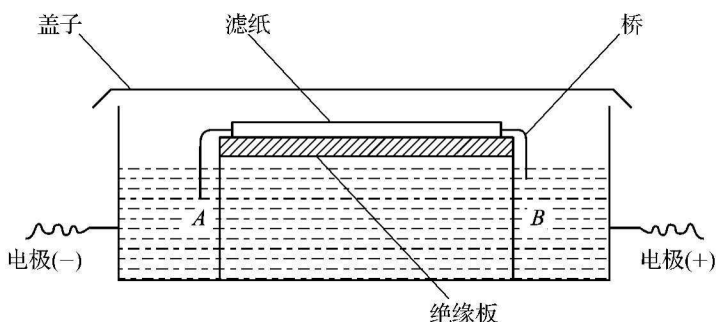


图 2-2 醋酸纤维素薄膜电泳装置示意图

6. 染色 电泳结束后,关闭电源。将薄膜从电泳槽中取出,染色 3 分钟。

7. 漂洗 将薄膜从染色液中取出(尽量沥尽染色液)后浸入漂洗液中漂洗 3~4 次,直至薄膜的底色洗净为止,用滤纸吸干薄膜。可见蛋白质被分为 5 条带。

## 五、注意事项

1. 点样时按操作步骤进行,否则常因血清滴加不均匀而导致电泳图谱不齐或分离不良。
2. 乙酰醋酸纤维素薄膜一定要浸透后才能点样。点样后电泳槽一定要密闭。电流不宜过大,以防止薄膜干燥,电泳失败。
3. 缓冲液离子强度不小于 0.05,不大于 0.07,因为过小可使区带拖尾,过大则使区带过于紧密。
4. 电泳槽中缓冲液也要保持清洁,同时连接的正、负极线路调换使用。
5. 电泳槽两边缓冲液要保持液面水平。
6. 通电完毕后,应先断开电源再取薄膜,以免触电。

## 六、实验结果

染色后的薄膜上可显现清楚的 5 条条带,从正极端起依次为:白蛋白、 $\alpha_1$ -球蛋白、 $\alpha_2$ -球蛋白、 $\beta$ -球蛋白、 $\gamma$ -球蛋白(图 2-3)。

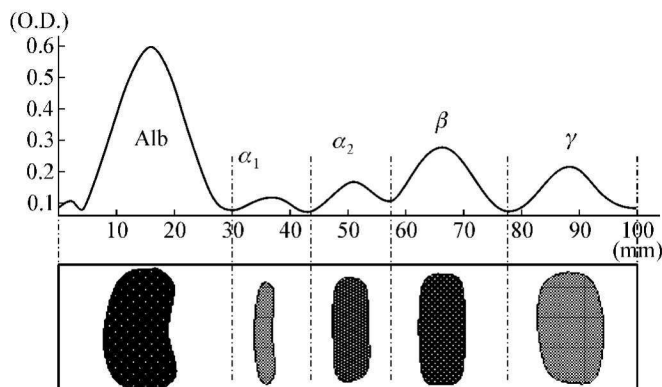


图 2-3 正常人血清蛋白质醋酸纤维薄膜电泳图谱和扫描曲线示意图

\*图中“-----”为各组分蛋白带的分界线



## 七、参考值

正常人血清蛋白质醋酸纤维膜电泳分离组分及百分含量如下：

清蛋白(A) 57%~72%； $\alpha_1$ -球蛋白 2%~5%； $\alpha_2$ -球蛋白 4%~9%； $\beta$ -球蛋白 6.5%~12%； $\gamma$ -球蛋白 12%~20%。

## 八、临床意义

1. 慢性肝炎、肝硬化时，清蛋白显著降低， $\gamma$ -球蛋白升高 2~3 倍。
2. 肾病综合征时，清蛋白降低， $\alpha_2$ -球蛋白及  $\beta$ -球蛋白升高。
3. 结缔组织疾病（如红斑狼疮、类风湿关节炎等）时，清蛋白降低， $\gamma$ -球蛋白显著升高。
4. 多发性骨髓瘤时，清蛋白降低， $\gamma$ -球蛋白升高，于  $\beta$ -球蛋白和  $\gamma$ -球蛋白区带之间出现“M”带。

### 实训思考

1. 血浆蛋白质主要是由哪些组织器官和细胞产生的？
2. 血清和血浆有哪些不同？