

医学基础实验系列教程

总主编 尤昭玲 李凡成 肖子曾

生物化学与分子生物学

实验教程

SHENGWU HUAXUE YU
FENZI SHENGWUXUE
SHIYAN JIAOCHENG

▶ 主编 张波



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

普通高等院校生物类专业
实验课教材

生物化学与分子生物学 实验教程

SHENGWU HUOXUE YU FENZI SHENGWUXUE
SHIYAN JIAOCHENG

主编 曹 颖

人民邮电出版社
POSTAL TELEGRAPH PRESS

· 医学基础实验系列教程 ·

生物化学与分子生物学实验教程

SHENGWU HUAXUE YU FENZI SHENGWUXUE SHIYAN JIAOCHENG

总主编 尤昭玲 李凡成 肖子曾
主 编 张 波
副主编 杨利平 成细华 程丽娟
编 委 (以姓氏笔画为序)
成细华 刘 辉 刘文龙 杨利平
张 波 张月娟 周赛男 贺爱兰
程丽娟 谭 峰

 人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

北 京

图书在版编目(CIP)数据

生物化学与分子生物学实验教程/张波主编. —北京:人民军医出版社,2009.4
(医学基础实验系列教程)

ISBN 978-7-5091-2606-6

I. 生… II. 张… III. ①生物化学—实验—教材②分子生物学—实验—教材
IV. Q5-33 Q7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 040275 号

策划编辑:杨磊石 文字编辑:秦 珑 责任审读:吴铁双

出版人:齐学进

出版发行:人民军医出版社

经销:新华书店

通信地址:北京市 100036 信箱 188 分箱

邮编:100036

质量反馈电话:(010)51927270;(010)51927283

邮购电话:(010)51927252

策划编辑电话:(010)51927292

网址:[www. pmmp. com. cn](http://www.pmmp.com.cn)

印、装:北京蓝迪彩色印务有限公司

开本:787mm×1092mm 1/16

印张:11.25 字数:252千字

版、印次:2009年4月第1版第1次印刷

印数:0001~3500

定价:30.00元

版权所有 侵权必究

购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换

内 容 提 要

本书系《医学基础实验系列教程》之一,包括基础理论和实验操作两大部分。基础理论部分阐述了生物化学基本操作、缓冲液配制、分离技术、层析技术、电泳技术、光谱分析技术和常用的分子生物学技术;实验操作部分介绍了物质分离鉴定、物质定量测定、蛋白质性质及常用分子生物学技术方法等 70 个实验,每个实验包括目的、原理、试剂与器材、操作方法、注意事项和思考题。本书内容系统,阐述简明,注重学生动手能力的培养和实验过程的科学体验,主要供高等医学院校相关专业实验教学之用,也可供相关专业的科研人员、企业技术人员阅读参考。

《医学基础实验系列教程》编写说明

随着现代医学科学技术、教育科学技术的进步与发展,医学教学理念也发生了深刻变化。尤其在基础医学教学领域,不仅要求在教学过程中传授理论知识,更要求加强学生的动手能力训练,同时对教学方法、内容、手段进一步规范化和先进化,以适应时代的发展,满足高等医学院校培养学生动手能力的需求。

为此,我们根据近年来的基础医学教学实践与经验,借鉴其他院校经验,编写了本套《医学基础实验系列教程》。本套教程包括《人体解剖学实验教程》、《医学机能学实验教程》、《医学显微形态学实验教程》、《生物化学与分子生物学实验教程》、《病原免疫学实验教程》,以适合高等中医院校、高等医学院校医学基础实验课的教学之用。

由于编者水平及我校医学基础实验教学条件所限,该套教程的编写可能存在某些不足之处,恳请读者及有关教师批评指正。

总主编 尤昭玲 李凡成 肖子雷

2008年11月

前 言

随着生命科学的迅速发展,生物化学和分子生物学越来越成为生命科学各领域的重要基础学科,生物化学与分子生物学实验技术已成为生命学科各领域研究的常规技术。为了使同学们能够顺利完成生物化学与分子生物学实验,了解现代生物化学与分子生物学实验最基本的技术,并在今后专业课的学习和工作中灵活应用,我们编写了本教材。

本书主要包括基础理论和实验操作两个部分。基础理论部分包括生物化学与分子生物学的基本操作技术原理,其中第1章由谭峰编写,第2章由程丽娟编写,第3章由张波和刘文龙编写,第4章由张波和成细华编写,第5章由张波编写,第6章由张波、杨利平和贺爱兰编写。实验操作部分包括生化物质的分离鉴定与定量测定等生物化学基本实验以及常用的分子生物学实验。其中第7章由张波、成细华、刘文龙和刘辉编写。第8章由张波、周赛男、张月娟、成细华和刘辉编写。第9章由张波和刘辉编写。第10章由张波、杨利平和贺爱兰编写。

本书的编写风格简明、实用。编写中突出实验的基础性、技能性和综合性。在编写过程中,去除了一些过时的实验技术,将过去实验教学过程中的单一技能训练转化为综合实验技能训练,在实验课程体系和内容的设置方面以系统综合大实验为核心并以科学研究思路为线索设计系列教学实验,让学生在实验课程中体验科研的过程,使学生从整体上了解进行生物化学及分子生物学科学研究的思路和方法,培养学生正确的科研思维能力和综合素质。

本教材涉及了广泛的实验技术,可作为高等院校生物和医药农林等专业学生生物化学和分子生物学实验的指导用书,也可供生物化学和分子生物学有关研究人员、企业技术人员等参考。尽管我们用最大努力来编写本教材,但仍可能存在错误的地方,希望读者在使用的过程中提出宝贵意见,以便更好地完善本教材。在本书的编写过程中受到了湖南师范大学胡兴旺博士的支持,同时刘群良、胡梅、陈伶俐和吴琼等几位老师也对本书编写作出了贡献,在此一并表示感谢。

张 波

2008年11月

目 录

第一篇 基础理论

第 1 章 基本操作与缓冲液的配制	(3)
第一节 洗涤液的配制及实验用器皿的清洗.....	(3)
第二节 常用仪器的使用.....	(4)
第三节 溶液的混匀与过滤.....	(12)
第四节 试剂及试剂保存与配制.....	(13)
第五节 实验误差与提高实验准确度的方法.....	(24)
第 2 章 常用的简单分离技术	(29)
第一节 离心.....	(29)
第二节 过滤.....	(32)
第三节 浓缩.....	(32)
第四节 沉淀.....	(33)
第五节 透析.....	(35)
第 3 章 层析技术	(36)
第一节 层析的原理.....	(36)
第二节 吸附层析.....	(37)
第三节 排阻层析.....	(38)
第四节 分配层析.....	(39)
第五节 离子交换层析.....	(40)
第六节 亲和层析.....	(41)
第七节 气相层析.....	(42)
第八节 高效液相层析.....	(42)
第 4 章 电泳技术	(45)
第 5 章 光谱分析技术	(48)
第 6 章 常用的分子生物学技术	(51)
第一节 核酸的分离纯化技术.....	(51)
第二节 重组 DNA 技术.....	(52)
第三节 核酸分子杂交技术.....	(54)
第四节 PCR 技术.....	(55)
第五节 蛋白质相互作用技术原理.....	(59)
第六节 蛋白质与 DNA 相互作用技术原理.....	(61)

第二篇 实验操作

第 7 章 物质的分离与鉴定实验	(67)
实验一 氨基酸的分离鉴定(纸层析法)	(67)
实验二 血红蛋白与鱼精蛋白的层析分离	(68)
实验三 离子交换层析法分离超氧化物歧化酶	(69)
实验四 亲和层析纯化胰蛋白酶	(71)
实验五 气相层析	(73)
实验六 高效液相层析	(75)
实验七 血清蛋白质醋酸纤维薄膜电泳	(76)
实验八 DNA 的琼脂糖凝胶电泳	(79)
实验九 平板聚丙烯酰胺凝胶电泳分离血清蛋白质	(80)
实验十 梯度 PAGE 分离血清蛋白质	(81)
实验十一 SDS-PAGE 测定蛋白质相对分子质量	(83)
实验十二 血红蛋白吸收曲线的绘制	(86)
实验十三 茯苓多糖和猪苓多糖水解与鉴定	(87)
实验十四 肝组织中核酸的分离与鉴定	(88)
实验十五 酪蛋白的制备	(90)
第 8 章 物质定量测定实验	(92)
实验一 核黄素荧光定量测定	(92)
实验二 邻甲苯胺法测定血糖浓度	(93)
实验三 维生素 C 的测定(2,4-二硝基苯肼法)	(94)
实验四 用正交法测定几种因素对酶活力的影响	(96)
实验五 血清总胆固醇的测定	(99)
实验六 血清胆固醇测定(邻苯二甲醛法)	(100)
实验七 血清三酰甘油测定	(101)
实验八 血清胆红素的定量测定	(103)
实验九 血清肌酐定量(苦味酸法)	(104)
实验十 血清钙定量(邻甲酚酞络合剂法)	(105)
实验十一 血清钾定量(四苯硼钠法)	(106)
实验十二 血清尿素氮定量(二乙酰一肟法)	(108)
实验十三 血浆二氧化碳结合力测定(滴定法)	(109)
实验十四 蛋白质含量测定(紫外吸收法)	(110)
实验十五 蛋白质含量测定(考马斯亮蓝法)	(111)
实验十六 蛋白质含量测定(双缩脲法)	(112)
实验十七 蛋白质含量测定(Folin-酚法)	(113)
实验十八 RNA 的定量测定(苔黑酚法)	(115)
实验十九 还原糖和总糖含量的测定(3,5-二硝基水杨酸比色法)	(116)
实验二十 糖的定量测定(蒽酮比色法)	(118)

实验二十一 果胶质含量测定(重量法).....	(119)
实验二十二 脂肪碘值的测定.....	(120)
实验二十三 中药杏仁脂质成分的定量测定(索氏提取法).....	(122)
第 9 章 蛋白质性质实验	(124)
实验一 酶的特性.....	(124)
实验二 茚三酮反应.....	(127)
实验三 蛋白质等电点的测定.....	(127)
实验四 蛋白质的沉淀反应.....	(128)
实验五 丙二酸对琥珀酸脱氢酶活性的影响.....	(130)
实验六 乳酸脱氢酶及其辅酶的作用.....	(131)
实验七 碱性磷酸酶米氏常数测定(双倒数作图法).....	(133)
实验八 血清丙氨酸转氨酶的活性测定.....	(135)
第 10 章 分子生物学实验	(137)
实验一 从植物组织提取基因组 DNA.....	(137)
实验二 从动物组织中提取基因组 DNA.....	(138)
实验三 细菌基因组 DNA 的制备.....	(139)
实验四 从琼脂糖凝胶中回收 3-磷酸甘油醛脱氢酶基因片段.....	(139)
实验五 LB、2YT 液体和固体培养基的配制.....	(141)
实验六 质粒 DNA 少量快速提取.....	(142)
实验七 质粒 DNA 的大量提取和纯化.....	(144)
实验八 人 ATP7B 基因第十三外显子的 PCR.....	(145)
实验九 肝组织总 RNA 的提取.....	(147)
实验十 GAPDH mRNA 的反转录 PCR(RT-PCR).....	(148)
实验十一 利用实时定量 PCR 分析 TNFAIP1 在不同细胞系中的表达.....	(149)
实验十二 重组质粒的连接.....	(152)
实验十三 大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞的制备.....	(153)
实验十四 重组质粒转化大肠杆菌感受态细胞及筛选、鉴定.....	(154)
实验十五 重组质粒 DNA 的酶切.....	(155)
实验十六 DNA 印迹杂交(一).....	(156)
实验十七 DNA 印迹杂交(二).....	(157)
实验十八 肝癌细胞总 RNA 的 RNA 印迹实验.....	(159)
实验十九 蛋白质印迹实验.....	(161)
实验二十 酵母双杂交系统确定蛋白质相互作用实验.....	(162)
实验二十一 GST 融合蛋白质沉降技术检测蛋白质相互作用实验.....	(165)
实验二十二 免疫共沉淀实验.....	(166)
实验二十三 电泳迁移率实验.....	(167)
实验二十四 染色质免疫沉淀实验.....	(169)

第一篇

基础理论

第1章 基本操作与缓冲液的配制

在生物化学与分子生物学实验中,有一些操作几乎是每次实验都需要用到的,它们对实验成功非常重要,这些操作称为基本操作,本章对这些操作进行介绍。缓冲液是很

多实验中使用的的基本溶液,为了方便实验的准备工作,本章也对常用缓冲液的配制方法进行介绍。

第一节 洗涤液的配制及实验用器皿的清洗

实验中所使用的玻璃仪器及塑料器皿清洁与否,直接影响实验结果,往往由于器皿的不清洁或被污染而造成较大的实验误差,甚至会出现相反的实验结果。因此,实验用器皿洗涤工作是十分重要的基本操作,是做好实验的前提及实验成败的关键因素之一。

一、洗涤液的种类及配制

1. 0.5%去垢剂溶液(常用洗涤液)。

2. 铬酸洗液又称重铬酸钾-浓硫酸洗涤液,简称洗液,广泛用于玻璃仪器的洗涤,配制方法如下。

(1)称取5g重铬酸钾粉末放入250ml烧杯中,加5ml水,尽量使其溶解。然后边搅拌,边缓缓注入浓硫酸100ml,待洗液温度冷却至室温,将其转移到有玻璃塞子的细颈干燥试剂瓶内贮存备用。

(2)量取100ml工业硫酸置于250ml烧杯中,小心加热,慢慢加5g重铬酸钾粉末,边加边搅拌,待全部溶解后,冷却并贮于有玻璃塞子的试剂瓶中备用。

3. 浓HCl(工业用)常用于洗去水垢或某些无机盐沉淀。

4. 浓HNO₃常用于洗涤除去金属离子。

5. 1mol/L KOH溶液。

6. 8mol/L 尿素洗涤液(用浓盐酸调pH为

1.0)用于洗涤盛蛋白质溶液及血样的器皿。

7. 1mmol/L EDTA溶液用于除去塑料容器内壁污染的金属离子。

8. 5%~10%磷酸三钠(Na₃PO₄·12H₂O)溶液,用于洗涤油污。

9. 氢氧化钾(KOH)的乙醇溶液和含有高锰酸钾的氢氧化钠(NaOH)溶液,适用于清除容器内壁污垢,但这两种强碱性洗涤液对玻璃仪器的侵蚀性很强,故洗涤时间不宜过长,使用时应小心慎重。

10. 有机溶剂如丙酮、乙醇、乙醚等,可用于洗脱油脂、脂溶性染料等污痕;二甲苯可洗脱油漆类污垢。

二、玻璃仪器的清洗

1. 初用玻璃器皿的洗涤 新购置的玻璃器皿表面常附着游离的碱性物质,可先用去垢剂(0.5%水溶液)或肥皂水洗刷,再用自来水洗净。然后浸泡在1%~2% HCl溶液中过夜,次日取出用自来水冲洗,再用蒸馏水漂洗数次,置烘箱内烘干或倒置晾干备用。

2. 使用过的玻璃器皿的洗涤

(1)一般玻璃器皿洗涤:许多污染物(包括有机物及金属离子等)易黏附于玻璃容器的内壁上,故每次使用后须及时清洗。通常情况下先用自来水冲洗至无污物,再用去垢

剂洗涤或浸泡于 0.5% 去垢剂水溶液中,将器皿内外(特别是内壁)仔细刷洗后,用自来水洗净,最后用蒸馏水漂洗数次,置烘箱(或微波炉)烘干或倒置在清洁处晾干备用。凡洗净的玻璃器皿,壁上不沾有水珠,否则表示尚未洗净,应按上述方法重新洗涤。量具玻璃仪器不能烘烤,只能晾干或风干。

对于进行高灵敏度分析及检测实验所用的器皿,将它们洗洁净是非常必要的,除用上述方法清洗外,还需采用其他特殊洗涤方法彻底清除污染物。一般是把玻璃器皿浸泡于铬酸洗液中 4~6h 或过夜,再分别用自来水冲洗和蒸馏水漂洗,烘干或晾干备用。通过洗液处理的玻璃器皿,在器壁上的有机污物会被完全清除。如有必要还可用浓 HNO_3 洗涤及处理,最后用双蒸水漂洗,这样将使器壁上污染的金属离子得以清除。

沾有传染性样品的容器,如病毒、传染病患者的血清等被污染的容器,应先进行消毒处理,再进行清洗。盛过毒物的容器,特别是盛过剧毒药品和放射性核素物质的容器,必须经过专门处理,明确没有残余毒物或放射性存在方可进行清洗。

(2)移液管的洗涤:移液管每次使用后须及时用流水冲洗或浸泡于冷水中,特别是吸取黏滞性较大的液体(全血、血浆、血清等)后应立即用流水充分冲洗,以免物质干涸和堵塞移液管。通常使用过的移液管经自来水冲

洗后,可浸泡于 0.5% 去垢剂溶液或铬酸洗液中过夜(不少于 4h),然后分别用自来水冲洗和蒸馏水漂洗,晾干备用。

(3)玻璃比色皿和石英比色皿的清洗:比色皿使用后应立即用蒸馏水充分冲洗,倒置在清洁处晾干备用。所有比色皿均可用 0.5% 去垢剂溶液洗涤,必须用脱脂棉小心地清洗,然后用大量蒸馏水充分漂洗干净,倒置晾干。但不能用氢氧化钾的乙醇溶液及其他强碱洗涤液清洗比色皿,否则会导致比色皿的严重腐蚀。

3. 塑料器皿的洗涤 聚乙烯塑料制品容器在生物化学实验中的应用日益广泛,因此塑料器皿的清洗也是非常重要的。新购买的塑料器皿一般先用自来水清洗,应以 8mol/L 尿素溶液(用浓盐酸调 pH 至 1.0)洗涤,再用蒸馏水漂洗。随后用 1mol/L KOH 溶液洗涤,再用蒸馏水漂洗。然后用 1mmol/L EDTA 溶液洗涤,以除去污染的金属离子,最后用双蒸水充分漂洗,倒置晾干备用。经过上述处理的器皿,每次使用后可用 0.5% 去垢剂溶液洗涤,再分别用自来水冲洗和蒸馏水漂洗,晾干后即可使用。如果需要也可按碱→尿素→EDTA 洗涤顺序处理,以除去器皿上的污染物。多数塑料器皿可在烘箱中干燥,但温度不宜过高,硝酸纤维制品及离心管不能置烘箱中干燥,因硝酸纤维是一种易爆物。

第二节 常用仪器的使用

一、吸 量 管

吸量管是用来转移一定体积溶液的量器,生化实验中常用的吸量管有 3 种(图 1-1)。它们包括:①刻度吸量管。刻度吸量管有刻度刻到尖端的及不刻到尖端的两种,使用前要仔细辨认。如使用刻度刻到尖端者,

将液体放出后,应吹出最后留在管内的少量液体。②移液吸量管。一般只在上端有一个刻度,将所量取的液体放出后,只需将吸量管的尖端触及受器壁约半分钟即可,不得吹出尖端的液体。有的移液管在下端狭窄处也有一刻度线,则两刻度线间的体积才代表该移液管上所注明的体积。③奥氏吸量管。准确度最高,使用时必须吹出留在尖端的液体。

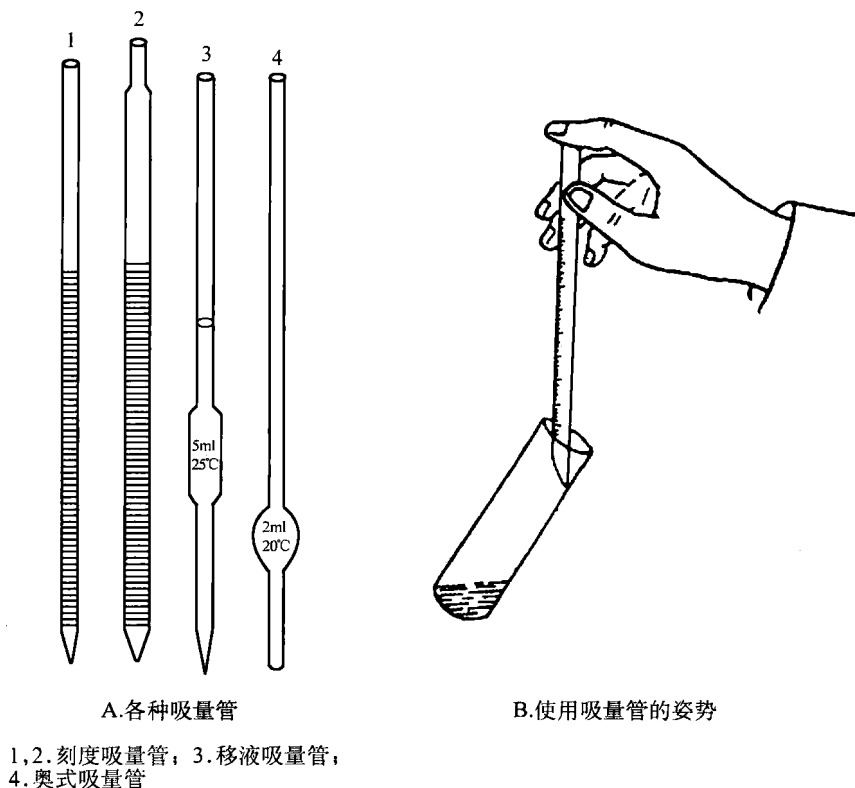


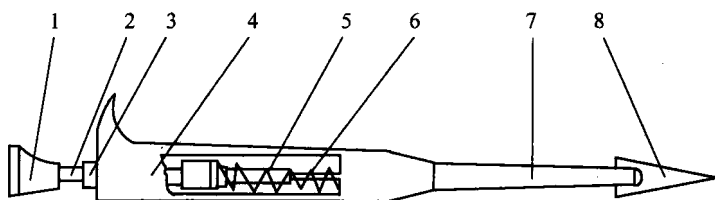
图 1-1 吸量管种类及其使用姿势

1. 吸量管的使用方法 使用吸量管时先要看清楚刻度,选择适当容量的吸量管(等于或略大于需要的毫升数)。拿吸量管时,标有刻度的一面要向着自己一侧,以便于读取刻度。用右手中指和拇指拿住吸量管上部,把管的尖端插入要取的液体中。左手持洗耳球把容器内液体吸至刻度上方时,立即用右手食指按住吸量管管口,以稳住吸量管内的液面。提起吸量管离开容器液面,将吸量管尖端接触容器内壁,以清除吸量管外壁所沾液体,并慢慢放松食指,使吸量管内液面的月弯面的最低点下降至所需的刻度处,此时眼睛与刻度线要处于同一水平面上,立即用食指堵紧。然后将吸量管插到需加液体的容器中,让其尖端与容器内壁靠紧,松开食指让液体流出。液体流完后再等 15s,捻动一下吸

量管后移去。如需吹的吸量管,则吹出尖端的液体后再捻转一下吸量管移去。吸量管的正确持法见图 1-1。

2. 可调移液器的使用 可调移液器是吸量管的革新产品,由塑料制成,具有使用方便,取、加样迅速,计量准确,不易破损,能吸取多种样品,只换吸嘴等优点。在一定容量范围内可根据需要调节取、加量,例如 0~200 μ l 等。可调移液器的结构见图 1-2。

使用方法:吸液前先把吸嘴套在吸量管上,套上后要轻轻地旋紧一下,以保证接合严密。持法见图 1-3。用拇指按下按钮到第一停止点,以排出一定容积空气,此时已可吸液。吸液时把吸嘴尖浸入取样液内约 0.5cm 处,徐徐松开大拇指,让按钮慢慢自行复原,将吸嘴尖接触容器内壁,以清除吸量管外壁



1.按钮; 2.推杆; 3.压盘; 4.外壳; 5.柱塞;
6.弹簧; 7.吸引管; 8.吸嘴

图 1-2 可调移液器的结构

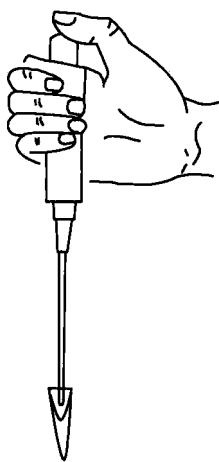


图 1-3 可调移液器的持法

所沾液体,即完成取样。排液时,将移液器的吸嘴尖置于加样容器壁上,用拇指慢慢地将按钮按到第一停止点,停留 1s(量取黏性较高的溶液时,可停留时间长些)。然后把按钮按到第二停止点,再让吸嘴沿着容器壁向上滑动。当吸嘴尖与容器壁或溶液不接触时释放按钮,使其返回到初始位置。

二、分析天平

分析天平是定量分析工作中不可缺少的仪器,充分了解仪器性能及熟练掌握其使用方法,是获得可靠分析结果的保证。分析天

平的种类很多,有普通分析天平、半自动/全自动加码电光投影阻尼分析天平及电子分析天平等。下面就电子分析天平的使用方法及注意事项做一简要介绍。

1. 分析天平的操作方法

(1)检查并调整天平至水平位置。

(2)事先检查电源电压是否匹配(必要时配置稳压器),按仪器要求通电预热至所需时间。

(3)预热足够时间后打开天平开关,天平则自动进行灵敏度及零点调节。待稳定标志显示后,可进行正式称量。

(4)称量时将洁净称量瓶或称量纸置于托盘上,关上侧门,轻按一下去皮键,天平将自动校对零点,然后逐渐加入待称物质,直到所需重量为止。

(5)被称物质的重量是显示屏左下角出现“→”标志时,显示屏所显示的实际数值。

(6)称量结束应及时移去称量瓶(纸),关上侧门,切断电源,并做好使用情况登记。

2. 分析天平使用时的注意事项

(1)天平应放置在牢固平稳水泥台或木台上,室内要求清洁、干燥及较恒定的温度,同时应避免光线直接照射到天平上。

(2)称量时应从侧门取放物质,读数时应关闭箱门以免空气流动引起天平摆动。前门仅在检修或清除残留物质时使用。

(3)电子分析天平若长时间不使用,则应

定时通电预热,每周1次,每次预热2h,以确保仪器始终处于良好使用状态。

(4)天平箱内应放置吸潮剂(如硅胶),当吸潮剂吸水变色,应立即高温烘烤更换,以确保吸湿性能。

(5)挥发性、腐蚀性、强酸强碱类物质应盛于带盖称量瓶内称量,防止腐蚀天平。

三、离心机

离心机是利用离心力对混合液(含有固形物)进行分离和沉淀的一种专用仪器。实验室常用电动离心机有低速、高速离心机和低速、高速冷冻离心机,以及超速分析、制备两用冷冻离心机等多种型号。其中以低速(包括大容量)离心机和高速冷冻离心机应用最为广泛,是生化实验室用来分离制备生物大分子必不可少的重要工具。在实验过程中,欲使沉淀与母液分开,常使用过滤和离心两种方法。但在下述情况下,使用离心方法效果较好:①沉淀有黏性或母液黏稠;②沉淀颗粒小,容易透过滤纸;③沉淀量过多而疏松;④沉淀量很少,需要定量测定,或母液量很少,分离时需要减少损失;⑤沉淀和母液必须迅速分开;⑥一般胶体溶液。

1. 电动离心机的基本结构和性能

(1)普通(非冷冻)离心机:这类离心机结构较简单,可分小型台式和落地式两类,配有驱动电机、调速器、定时器等装置,操作方便。低速离心机其转速一般不超过4 000r/min,台式高速离心机最大转速可达18 000r/min。

(2)低速冷冻离心机:转速一般不超过4 000r/min,最大容量为2~4L,实验室通常用于大量初级分离提取生物大分子、沉淀物等。其转头多用铝合金制的甩平式和角式两种,离心管有硬质玻璃、聚乙烯硬塑料和不锈钢管多种型号。离心机装配有驱动电机、定时器、调整器(速度指示)和制冷系统(温度可调为-20~40℃),可根据离心物质所需,更

换不同容量和不同型号转速的转头。

(3)高速冷冻离心机:转速可达20 000r/min以上,除具有低速冷冻离心机的性能和结构外,高速离心机所用角式转头均用钛合金或铝合金制成。离心管为有盖的聚乙烯硬塑料制品。这类离心机多用于收集微生物、细胞碎片、细胞、大的细胞器、硫酸沉淀物以及免疫沉淀物等。

(4)超速离心机:转速可达50 000r/min以上,能使亚细胞器分级分离,并用于蛋白质、核酸相对分子质量的测定等。其转头为高强度钛合金制成,可根据需要更换不同容量和不同型号的转速转头。超速离心机驱动电机有两种,一种为调频电机直接升速,另一种为通过变速齿轮箱升速。为了防止驱动电机在高速运转中产热,装有冷却驱动电机系统(风冷、水冷),限速器、计时器、转速记录器等。此外,超速离心机还装配有抽真空系统。

2. 一般离心机的使用方法

(1)检查离心机调速旋钮是否处在零位,外套管是否完整无损和垫有橡皮垫。若是数字显示调节型,则直接设定。

(2)离心前,先将离心的物质转移入合适的离心管中,其量以距离离心管口1~2cm为宜,以免在离心时甩出。将离心管放入外套管中,在外套管与离心管间注入缓冲水,使离心管不易破损。

(3)取1对外套管(内已有离心管)放在台秤上平衡。如不平衡,可调整缓冲用水或离心物质的量。将平衡好的套管放在离心机转头的对称位置上。把不用的套管取出,并盖好离心机盖。

(4)接通电源,开启开关。

(5)平稳、缓慢地转动调速手柄(需1~2min)至所需转速,待转速稳定后再开始计时。数字显示调节型离心机则直接设定时间、转速并按确定键,然后按开始键进行离心。

(6)离心完毕,将手柄慢慢地调回零位。