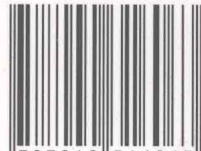


医学生物化学与分子生物学实验教程

ISBN 978-7-04-031606-3



9 787040 316063 >

定价 28.00 元

普通高等教育“十一五”规划教材配套用书

医学生物化学与分子生物学 实验教程

Yixue Shengwu Huaxue yu Fenzi Shengwuxue Shiyān Jiāochéng

主 编 朱月春 曹西南

主 审 田兴亚

副主编 杨银峰 黄尤光 李治纲 左绍远

编 者 (以姓氏笔画为序)

王 昕 左绍远 冯维杨 朱月春 刘 佳 刘云春

孙千鸿 李小洁 李治纲 李树德 杨 云 杨银峰

吴 静 吴冠儒 余果宇 狄 勇 张 明 陈可欣

范 浩 单 妍 贺 铭 秦 钰 唐 璟 黄尤光

曹西南 单 妍 贺 铭 童淑芬 谢 薇



内容简介

本教材是为适应高等医学院校的实验教学改革和发展需要而编写的,分为概论(含基本操作及常用仪器使用)、生物化学与分子生物学技术和生物化学与分子生物学实验(包括基础性实验、综合性实验和创新设计实验)共三篇。在实验的基础理论方面,增加了近年来常用的 RNA 干扰、细胞培养和转染等技术。在实验项目的设置上,除了蛋白质、核酸的分离纯化分析以及酶学、糖类、脂类分析等基础实验外,大部分的综合性实验和创新设计实验则是来源于教师们的科研项目,适合于研究生使用。每一篇后有英文小结,附录中有常用仪器、技术等中英文词汇对照表。本教材内容较新颖,体系较完整,不同层次实验的培养目标有所侧重,便于不同层次学生选择。

本教材可供医学院校本(专)科及研究生实验教学使用,也可作为教师、医师和技术人员的科研参考书。

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/朱月春,曹西南主编.—北京:高等教育出版社,2011.4

ISBN 978-7-04-031606-3

I. ①医… II. ①朱…②曹… III. ①医用化学:生物化学-实验-医学院校-教材②医药学:分子生物学-实验-医学院校-教材 IV. ①Q5-33②Q7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 049919 号

策划编辑 席雁

责任编辑 瞿德竑

封面设计 张楠

责任印制 张福涛

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街 4 号
邮政编码 100120
印 刷 北京奥鑫印刷厂
开 本 787×1092 1/16
印 张 18
字 数 440 000
购书热线 010-58581118

咨询电话 400-810-0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.landaco.com>
<http://www.landaco.com.cn>
版 次 2011 年 4 月第 1 版
印 次 2011 年 4 月第 1 次印刷
定 价 28.00 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换

版权所有 侵权必究

物料号 31606-00

前 言

医学实验教学是医学教育的重要组成部分，是培养学生实践能力、科学思维和创新精神的主要途径之一，因此，提高医学实验教学质量将有助于医学整体教育水平的提升。医学生物化学与分子生物学实验技术是当代医学研究的重要手段和方法，也是医学相关专业和各层次学生的必修实验课。为了适应高等医学院校实验教学改革和发展的需要，构建多层次、多模块的医学生物化学与分子生物学实验教学体系，我们编写了这本实验教程。

本教材分为三篇。第一篇是概论，介绍学生进入实验室所必需的基本知识、基本实验操作和常用仪器的使用，为后续的实验教学奠定基础。第二篇是生物化学与分子生物学技术，包括分光分析、电泳、层析、离心、PCR、印迹、重组DNA等常用技术，也介绍了RNA干扰、芯片、双向电泳、细胞培养与细胞转染技术等当前科学研究中常用的新技术，还介绍了生物信息学中生物分子结构建模，有利于学生系统了解生物化学与分子生物学技术。第三篇是生物化学与分子生物学实验，根据实验内容和要求，结合教学逻辑和规律，为满足不同层次学生的要求，将实验分为基础性实验、综合性实验和创新设计实验三个模块。基础性实验经过了长期实验教学实践，有助于巩固学生基本理论知识和培养学生基本实验操作技能。综合性实验多来源于编者所在学校教师们的科研项目，应用了多种生物化学与分子生物学实验技术，经过多轮教学的实际检验，有利于培养学生的科研思路和综合分析能力。创新设计实验则是从临床病例出发，给具备一定基本理论和技术的学生有发挥的空间，通过设计实验方案，探讨疾病的生物化学与分子机制，培养学生的科研能力。

本教材的实验由从事多年生物化学与分子生物学教学和科研的学科带头人和中青年骨干教师编写，并注重实验的科学性与实用性相结合、传统与现代相结合、知识传授与素质培养相结合。为了便于学生的学习，还介绍了生物化学与分子生物学常用软件和网络资源。此外，为配合双语教学的开展，在各篇之后配有英文小结，附录中有本实验教程中使用的仪器、常用试剂、名词等的英中文对照。

各高等医学院校根据各专业本科生和研究生的培养目标和要求，可选择本教程中不同模块的实验项目实施实验教学。此外，本教材可以作为广大教师、研究生、医师和技术人员科研工作的重要参考书。

由于编者水平有限，各医学院校的实验教学模式和条件存在差异，教材中一定存在不当或错误，恳请同行专家和同学们批评指正，提出宝贵意见。

朱月春 曹西南

2010年11于昆明

目 录

第一篇 概 论	1
第一章 实验室概述	2
第二章 基本实验操作	5
第三章 常用仪器的使用	10
第四章 实验报告撰写及要求	16
第二篇 生物化学与分子生物学技术	19
第五章 分光光度技术	20
第一节 分光光度技术的基本原理	20
第二节 分光光度计的组成与结构	22
第三节 分光光度技术的应用	24
第六章 电泳技术	26
第一节 电泳的基本原理	26
第二节 影响电泳分离的因素	26
第三节 电泳的类型	28
第四节 几种常用电泳简介	29
第七章 层析技术	35
第一节 层析原理	35
第二节 常用的层析方法	42
第八章 离心技术	45
第一节 离心技术的基本原理	45
第二节 离心机的类型	46

第三节 制备型离心的分离方法	47
第四节 离心操作的注意事项	48
第九章 聚合酶链反应技术	50
第一节 PCR技术的基本原理、特点及影响因素	50
第二节 PCR的引物设计	52
第三节 几种常用的PCR衍生技术	53
第四节 PCR技术的主要应用	53
第五节 PCR实验操作的注意事项	54
第十章 印迹技术	56
第十一章 重组DNA技术	59
第一节 重组DNA技术的相关概念	59
第二节 重组DNA技术的基本原理及操作步骤	60
第三节 重组DNA技术在医学领域的应用	63
第十二章 外源蛋白质在原核细胞的表达与分离纯化	65
第十三章 荧光标记技术	68
第一节 荧光现象	68
第二节 荧光探针	70
第三节 荧光标记样品的检测	71
第十四章 RNA干扰技术	78
第一节 RNA干扰的作用机制	78
第二节 RNA干扰技术的应用	80
第十五章 生物芯片技术	82
第一节 基因芯片	82
第二节 蛋白质芯片	84
第十六章 基因多态性研究	86
第十七章 双向电泳	90
第十八章 细胞培养与细胞转染技术	93
第一节 细胞培养技术	93
第二节 细胞转染技术	97
第十九章 蛋白质三维结构建模	99
第一节 蛋白质结构的确定与预测	99
第二节 蛋白质结构预测实例	101

第三篇 生物化学与分子生物学实验	111
第二十章 基础性实验	112
实验1 蛋白质的呈色反应、沉淀现象观察及等电点的测定	112
实验2 蛋白质含量的测定	115
实验3 丙二酸对琥珀酸脱氢酶的竞争性抑制作用	123
实验4 红细胞葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性测定	125
实验5 血清丙氨酸转氨酶 (ALT) 活性测定	129
实验6 碱性磷酸酶米氏常数测定	132
实验7 凝胶柱层析分离蛋白质	134
实验8 聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳分离血清蛋白	136
实验9 糖化血红蛋白的测定	139
实验10 血清脂蛋白琼脂糖凝胶电泳	143
实验11 血红蛋白的醋酸纤维素薄膜电泳	145
实验12 血糖测定	146
实验13 胰岛素、肾上腺素对家兔血糖浓度的影响	152
实验14 饥饿和饱食对小鼠肝糖原含量的影响	153
实验15 血清总胆固醇测定	155
实验16 质粒DNA的提取、浓度测定和纯度鉴定	158
实验17 酵母RNA的成分鉴定	160
实验18 λ DNA的限制性内切酶消化及琼脂糖凝胶电泳分析	161
实验19 PCR扩增G6PD基因外显子11-12片段	163
实验20 维生素C的测定	164
实验21 尿中酮体的检出	166
实验22 血清尿素氮测定	167
实验23 四苯硼钠直接比浊法测定血清钾离子浓度	171
第二十一章 综合性实验	173
实验1 SDS-PAGE测定蛋白质的表观分子量	173
实验2 血红蛋白的等电聚焦分离及其等电点测定	177
实验3 血清蛋白的盐析及清/球比值的测定	179
实验4 血清蛋白醋酸纤维素薄膜电泳分离及定量测定	182
实验5 酶的特异性及温度、pH、激活剂、抑制剂对酶活性的影响	185
实验6 肽的N-末端氨基酸分析	188
实验7 小鼠肝细胞核的分离、纯化与鉴定	190

实验 8 等电聚焦电泳技术分离乳酸脱氢酶同工酶	193
实验 9 糖的硅胶 G 薄层层析分析鉴定	195
实验 10 动脉硬化指数的计算	197
实验 11 pThioHis (A) -G6PD 重组表达质粒的鉴定	199
实验 12 G6PD 重组酶的诱导表达、分离及比活性测定	202
实验 13 ATP、ADP 和 NADPH 对 G6PD 酶促反应的影响	206
实验 14 大鼠脑组织肌酸、磷酸肌酸和腺苷酸的同步测定	211
实验 15 尿儿茶酚胺的测定	213
实验 16 小鼠血清 IgG 的 Western blotting 分析	216
实验 17 真核细胞基因组 DNA 的提取、定量和纯度测定	221
实验 18 小鼠基因组 DNA 的 Southern blotting 分析	223
实验 19 pMD19-G6PD 重组子的蓝白斑筛选及限制酶切鉴定	227
实验 20 小鼠脑组织总 RNA 提取与 RT-PCR 获取真核基因片段	231
实验 21 小鼠 PKC ϵ 基因的克隆、鉴定及其 6His 融合蛋白质的 大肠杆菌表达和纯化	236
第二十二章 创新设计实验	242
实验 1 乙醛脱氢酶突变基因型的检测	242
实验 2 针刺“足三里”穴对家兔血糖浓度双向调节作用的观察	244
实验 3 小鼠 PKC ϵ 相互作用蛋白质的捕获、鉴定	246
实验 4 巢式 MSP 法检测胃癌细胞 p16 基因的甲基化	249
实验 5 细胞凋亡检测 (PARP 的蛋白酶解)	250
实验 6 小鼠肝总蛋白质的双向电泳分离	252
实验 7 人血浆同型半胱氨酸的测定	256
实验 8 自毁容貌综合征的生化与分子生物学分析	257
实验 9 G6PD 缺陷的诊断及其发病的分子基础	258
附录一 生物化学与分子生物学常用数据库和软件	261
附录二 生物化学与分子生物学常用试剂和培养基的配制方法	263
附录三 生物化学与分子生物学实验常用缩略语	266
附录四 生物化学与分子生物学实验常用词英中文对照	269
参考文献	277

第一篇 概 论

生物化学与分子生物学实验是医学生必修的实验课程。实验教学要求学生在理解和掌握实验原理的同时，也需要具备良好的实验操作技能。本篇主要介绍生物化学与分子生物学实验室的规则和安全防护要求、生物化学与分子生物学的基本实验操作和常用仪器使用等内容，为实验教学的顺利实施和完成实验教学目标奠定基础。

第一章

实验室概述

实验室是实验参与者共同工作和学习的公共空间。为保证生物化学与分子生物学实验教学能有效、有序和安全地实施，特制定了实验室规则和实验室安全防护措施。进入生物化学与分子生物学实验室的教师和学生必须严格遵守实验室规则，了解实验室安全防护、实验室急救处理和实验室常识等基本知识，以保证师生的自身安全和正确应对紧急情况的发生。

一、实验室规则

1. 实验室是教学实验和科学研究的重要基地，与实验无关的人员未经许可不得擅自进入实验室。教师和学生在学习和科研的实践中必须遵守实验室的各项规章制度。
2. 进入实验室应穿工作服，根据实验需要戴帽子和口罩。
3. 学生实验前必须认真做好预习，明确实验目的、方法和步骤，初步了解所用仪器设备的性能、使用方法和安全事项，未经预习或无故迟到、缺席者，指导教师有权停止其实验。
4. 进入实验室不得高声喧哗、吵闹。不准搬弄和移动与实验无关的仪器设备、器皿等。要保持室内整洁卫生，不准吸烟、吃零食，不准随地吐痰和乱抛纸屑杂物。
5. 实验中严格遵守操作规程，服从教师的指导，实验时应集中思想、认真操作，如实记录和分析实验现象和结果，不准擅离操作岗位或干扰他人实验。
6. 实验中要注意安全，节约水、电、材料；使用剧毒、易燃、易爆等化学危险品时必须按规定操作，并采取必要的防护措施；遇到事故应立即切断水源、电源，及时向指导教师报告，并保护好现场。
7. 爱护实验室仪器设备和工具，若违反操作规程或不听从指导而造成仪器设备、工具损坏者，应按相应赔偿办法进行处理。
8. 学生必须以实事求是的态度认真记录、分析实验结果，写出实验报告，不得抄袭或臆造，并按时交送实验报告。
9. 实验完毕应将仪器、设备、工具、器皿放回原处，整理好实验场地，做好清洁卫生，经指导教师同意后方可离开实验室。

二、实验室安全防护措施

在生物化学与分子生物学实验室中，常常使用易碎的玻璃器皿，也经常与易燃、易爆、有毒和有腐蚀性的化学物品接触，因此，必须重视实验室的安全和防护。

1. 离开实验室时，一定要检查室内的水、电和煤气的开关是否关好，再把门窗锁好。
2. 在使用实验室的电器设备，如烤箱、恒温水浴箱、电源设备、离心机等时，一定注意严防触电，绝不可湿手插插座和开关电源。漏电的设备不可继续使用，必须检修。
3. 使用浓酸碱时，必须小心谨慎，防止溅失。如不慎溅在实验台面，应立即用湿抹布擦干净；如溅及皮肤应立即治疗。
4. 使用乙醇、乙醚、丙酮、苯等易燃物时，要远离火源。禁止将沸点低的有机溶剂置于火焰上直接加热。
5. 废液，特别是含有强酸碱的，不能直接倒入下水槽，应先稀释后再倒入，然后用自来水冲洗下水槽。如废液中含有有毒或对环境会产生危害的物质，一定要定点回收，然后做无害化处理才能排入下水道。
6. 有毒试剂应按实验室规定办理审批手续方可领取，并严格按操作规程使用。
7. 使用高压锅消毒时，使用者不得随意离开。禁止将易燃、易爆、有毒、腐蚀性物品及不耐高温的物品放入高压锅内进行消毒，以防危险事故发生。高温高压消毒液体时，容器不得密闭，可将试剂瓶的盖子拧好后再回转一圈，消毒完毕后，待温度降至室温再将瓶盖拧紧。

三、实验室急救处理

实验过程中发生受伤事故应立即采取相应急救措施。

1. 玻璃割伤及机械外伤：首先检查伤口处有无玻璃或金属碎片，然后用硼酸水洗净，再涂碘酒或紫药水，必要时用纱布包扎。如伤口较大或出血较多，应立即在伤口上部和下部扎紧血管止血，迅速送医院治疗。
2. 烫伤：一般用较浓（90%~95%）乙醇消毒后，涂上苦味酸软膏或蛇油膏。若烫伤处皮肤呈棕色或黑色，应用干燥无菌的消毒纱布轻轻包扎，急送医院治疗。
3. 强酸溅及皮肤时，立即用大量自来水冲洗，再以5%碳酸氢钠溶液洗涤。强碱触及皮肤引起的灼伤，先用大量自来水冲洗，再用5%硼酸溶液洗涤。
4. 酚试剂溅及的灼伤，用大量清水冲洗后，再用肥皂洗净，忌用乙醇。
5. 触电后，必须切断电路：① 关闭电源；② 用干木棍使导线与触电者分离；③ 施救者必须做好安全防护，手脚必须绝缘。

四、实验室常识

1. 称量固体试剂应选用硫酸纸，不可用滤纸。量筒是量器，不要用作盛器。
2. 取用试剂和标准溶液后，应立即将瓶盖塞严，放回原位。取出的试剂和标准溶液如未用尽，切勿倒回瓶内，以免污染试剂。
3. 使用有毒或挥发性试剂时，应在通风柜内操作，操作者应戴上口罩和手套。
4. 使用有机溶剂应注意：① 许多有机溶剂易燃，应远离火源；② 许多有机溶剂有毒性，对人体有害，可在体内蓄积有损肝，应尽可能减少接触的机会和时间。
5. 见光易变质的试剂，需避光保存，可用棕色瓶储存，或用锡纸包裹好。
6. 用过的试管、量筒、试剂瓶等要及时用自来水洗净，再用蒸馏水冲洗，然后放于管架上自然晾干，不要用抹布擦拭。
7. 配制好的试剂应及时做好标记，标签纸上应注明试剂的名称、浓度、用途和配制日

期，标签纸应贴于试剂瓶的上1/3处。

8. 要合理区分试剂的保存环境（如温度、湿度及避光与否）。使用低温保存时，保存物品要做好标记，物品应放置有序，冰箱门打开后要及时关好。低温下操作时，要带上保暖手套，以防冻伤。

9. 使用实验室的精密或贵重仪器前要阅读使用说明书，熟悉操作流程，有疑问时要请教指导教师。使用仪器时，全程要有专人看守，要小心谨慎，严格遵守操作规则，如有试剂溅至仪器上，应及时用抹布擦拭干净。如仪器发生故障，应立即停止使用，告知管理者，禁止擅自拆卸修理。

10. 实验结束后，应及时清理废弃物品，将实验台面清洁干净。

（贺 铭）

第二章

基本实验操作

在生物化学及分子生物学实验中，正确、合理的操作对于实验者取得正确的实验数据尤其重要。通过对本章的学习和操作实践，培养学生规范的实验操作习惯，为今后的实验学习打下良好的基础。

一、玻璃仪器的使用

在实验室中，玻璃仪器广泛应用于生物化学及分子生物学的教学和科学研究，使用的玻璃仪器分为装量和卸量两大类。量瓶和单刻度管为装量仪器。滴定管、一般吸量管和量筒等均为卸量仪器。

(一) 吸量管

吸量管是生物化学实验中最常用的玻璃仪器。

1. 使用方法 在吸取溶液时，一般用右手大拇指和中指拿住管颈刻度线上方，把管尖插入溶液中。左手拿吸耳球，先把球内空气压出，然后把吸耳球的尖端接在吸管口，慢慢松开左手手指，使溶液吸入管内。当液面升高至刻度线上方，迅速用食指按紧吸管口，再使吸管离开液面，此时管的末端仍靠在盛溶液器皿的内壁上。略为放松食指，使液面平稳下降，直到溶液的弯月面与刻度标线相切时，立即用食指压紧管口，取出吸管，插入接受器中，管尖仍靠在接受器内壁。此时吸管应垂直，并与接受器约呈 15° 夹角。松开食指让管内溶液自然地沿器壁流下。

遗留在吸管尖端的溶液及停留的时间要根据吸管的种类进行不同处理：①完全流出式：上有零刻度，下无总量刻度的，或上有总量刻度，下无零刻度的，为完全流出式。这种吸管又分为慢流速、快流速两种。按其容量和精密度不同，慢流速吸管又分为A级与B级，快流速吸管只有B级。使用时A级最后停留15 s，B级停留3 s，同时转动吸管，尖端遗留液体不要吹出。②吹出式：标有“吹”字的为吹出式，使用时最后应吹出管尖内遗留的液体。

2. 使用注意事项 ①应根据不同的需要选用大小合适的吸管，如欲量取1.5 mL的溶液，选用2 mL吸管要比选用1 mL或5 mL吸管误差小；②吸取溶液时要把吸管插入溶液深处，避免吸入空气而使溶液从上端溢出；③吸管从液体中移出后必须用滤纸将管的外壁擦干，再行放液。

(二) 量筒

量筒不是吸管或滴定管的代用品。在准确度要求不高的情况下，量筒用来量取相对大量的液体。不需加热促进溶解的定性试剂可直接在具有玻璃塞的量筒中配制。

(三) 容量瓶

容量瓶具有狭窄的颈部和环形的刻度，是在一定温度下（通常为20℃）检定的、含有准确体积的容器。使用前应检查容量瓶的瓶塞是否漏水，合格的瓶塞应系在瓶颈上，不得任意更换。容量瓶刻度以上的内壁挂有水珠会影响准确度，所以应该清洗干净。所称量的任何固体物质必须先在小烧杯中溶解或加热溶解，冷却至室温后，才能转移到容量瓶中。容量瓶绝不应加热或烘干。

二、玻璃仪器的清洗

在生物化学和分子生物学实验中，所用的玻璃仪器是否清洁，将直接影响到实验的结果，因此，玻璃仪器的清洁就显得尤为重要。

1. 初次购买的玻璃仪器清洗 新购买的玻璃仪器表面常常附着碱性物质，需用1%~2%盐酸溶液浸泡过夜，用自来水冲洗后，再用去离子水涮洗2次，100℃烤箱烘干后备用。

2. 使用过的玻璃仪器清洗 先用自来水洗刷至无污物，再用毛刷蘸取去污剂洗刷，然后用自来水彻底洗净后，用去离子水涮洗2次，烘干备用。如是计量仪器，晾干即可。洗净的玻璃仪器内外壁水流线不会成条，否则重洗。

3. 玻璃或石英比色杯的清洗 用去污剂浸泡后，用自来水冲洗，不可用毛刷刷洗，最后用去离子水涮洗2次，倒置于滤纸上晾干备用。

三、可调式微量移液器

微量移液器（micropipette）在实验室又称“移液枪”或简称“枪”。微量移液器是生物化学与分子生物学实验的必备工具。它具有质量轻、精度高、读数直观、使用方便的优点，是实验室使用频率最高的取液工具。

(一) 微量移液器的外部构造及工作原理

微量移液器的外部构造和握持的标准方法见图2-1。工作原理：通过调节旋钮设定好取液体积后，按下按钮推动活塞向下运动排出气体，松手后，在弹簧的弹力作用下，活塞回复至原位，从而完成一次取液过程。

(二) 操作程序

1. 取液 将匹配的吸头套在移液器杆上，旋转压紧，保证两者间无间隙。旋动调节旋钮至所需取液体积。然后，轻按按钮由“0”位（自然状态的位置）至“1”位（第一阻力档的位置），将吸头垂直插入液面2~4 mm处，缓慢松开按钮，在弹簧的弹力作用下，按钮由“1”

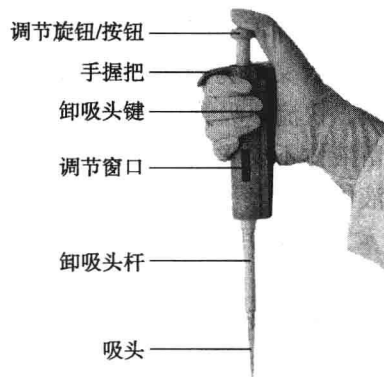


图2-1 微量移液器的构造及握持方法

位恢复至“0”位，完成取液过程。

2. 排液 将移液器吸头尖部以 $10^{\circ} \sim 45^{\circ}$ 倾斜于容器内壁，缓慢按下按钮至“1”位，继续用力推至“2”位（第二阻力档的位置），排出所有液体。停顿数秒后移走移液器，松开按钮，取下吸头，即完成排液过程。

（三）注意事项

1. 严禁用微量移液器打闹、敲打桌面等，使用后将其放置妥当，严防摔落。
2. 必须明确微量移液器的最大和最小取液量，切勿超范围使用移液器，否则将造成移液器的损坏。
3. 不同规格的移液器匹配不同规格的吸头，请勿张冠李戴。
4. 排液过程中，一定要将按钮推至“2”位，以便排尽液体。
5. 当吸头内有液体时，一定要保持吸头向下，禁止平放或倒置，否则液体将倒流至移液器管套中，造成对移液器的污染和损坏。
6. 取黏度较高的液体如甘油、液状石蜡等，需缓慢放松按钮，停顿稍长时间，保证取液量的准确。
7. 避免使用移液器吸取具有挥发性和腐蚀性的液体，如浓盐酸等。
8. 实验结束后，将用过的微量移液器的调节旋钮调至其最大取液值，以保证弹簧不至于受压变性，造成移液器取液量不准。

四、溶液的混匀、过滤和离心

（一）溶液的混匀

实验过程中，容器中加入的几种试剂能否充分混匀往往是实验成败的关键因素之一。液体混匀的方法有以下几种：

1. 旋转法 右手掌心朝向容器口，五指握住容器，利用腕力使容器向同一方向做圆周运动，使液体造成漩涡而混匀之。该法适用于容器中液体较多或小口径器皿。
2. 甩动法 右手持试管上部，将试管轻轻甩动振摇即可混匀。此法适用于液体较少时使用。
3. 弹敲法 右手持试管上部，将试管下部来回轻敲左手掌心混匀。
4. 指弹法 左手大拇指和食指指尖夹住离心管，用右手食指反复轻弹离心管底部，使管内溶液混匀。
5. 吸管混匀法 用清洁吸管或移液器吸头反复吸打数次，使溶液混匀。
6. 颠倒混匀法 将玻璃试管用玻璃纸封口，或将离心管管盖盖紧，反复颠倒。
7. 机械振荡法 将几种液体加入离心管或试管中，手持容器在振荡器上振荡混匀。此法混匀的力量最为强劲，混匀最为充分。

（二）溶液的过滤

溶液的过滤是将液体和固体两种成分分离的实验操作手法。

1. 简易过滤方法 可用普通滤纸或棉花球塞入玻璃漏斗口处，将待过滤液体缓慢倒入漏斗中，在漏斗下方处放置容器收集滤液。通过此法，可将溶液中肉眼可见的较大颗粒过滤，但仍然可能存在细小的杂质。

2. 使用过滤器过滤溶液 一次性过滤器可按使用说明操作。其中,孔径为 $0.45\ \mu\text{m}$ 的滤膜可过滤溶液中绝大多数杂质,而孔径 $0.22\ \mu\text{m}$ 的滤膜还具有过滤消毒的作用,一些不能高温高压灭菌消毒的溶液如葡萄糖溶液可用过滤器除菌。

(三) 溶液的离心

实验过程中,欲分离溶液中的固体和液体成分,常使用过滤和离心。但在下述情况下,使用离心方法效果更好: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,分离时应减少损失。⑤沉淀和母液必须迅速分开。⑥一般胶体溶液。

离心机的使用和注意事项详见第三章。

五、试剂的配制与保存

(一) 试剂配制的注意事项

1. 称量要精确,特别是在配制标准溶液、缓冲液时,更应注意严格称量。有特殊要求的,要按规定进行干燥、恒重、提纯等。

2. 一般溶液都应用蒸馏水或去离子水(即离子交换水)配制。配制溶液时,应根据实验要求选择合适规格的试剂进行配制。试剂应根据需要量配制,一般不宜过多,以免积压浪费,过期失效。

3. 试剂(特别是液体)一经取出,不得放回原瓶,以免因量器或药勺不清洁而污染整瓶试剂。取固体试剂时,必须使用洁净干燥的药勺。

4. 配制试剂所用的玻璃器皿,都要清洁干净。存放试剂瓶应清洁干燥。试剂瓶上应贴标签,写明试剂名称、浓度、配制日期及配制人。试剂用后要用原瓶塞塞紧,瓶塞不得沾染其他污物或沾污桌面。

5. 有些化学试剂极易变质,变质后不能继续使用。

(二) 易变质及需要特殊方法保存的试剂(表2-1)

表2-1 常见需特殊保存的试剂

注意事项	试剂名称举例
需要密封	易潮解吸湿 氧化钙、氢氧化钠、氢氧化钾、碘化钾、三氯乙酸
	易失水风化 结晶硫酸钠、硫酸亚铁、含水磷酸氢二钠、硫代硫酸钠
	易挥发 氨水、氯仿、醚、碘、麝香草酚、甲醛、乙醇、丙酮
	易吸收 CO_2 氢氧化钾、氢氧化钠
	易氧化 硫酸亚铁、醚、醛类、酚、抗坏血酸和一切还原剂
	易变质 丙酮酸钠、乙醚和许多生物制品(常需冷藏)
需要避光	见光变色 硝酸银(变黑)、酚(变淡红)、氯仿(产生光气)、茚三酮(变淡红)
	见光分解 过氧化氢、氯仿、漂白粉、氰氢酸
	见光氧化 乙醚、醛类、亚铁盐和一切还原剂