

全国医学院校高职高专系列配套教材

医学生物化学

实验指导与学习指南

主编 张 申 庄景凡



北京大学医学出版社



全国医学院校高职高专系列配套教材

医学生物化学

实验指导与学习指南

主 编 张 申 庄景凡

副主编 龙友国 段如春 李继绸

编 者 (以姓氏笔画为序)

王海英 (怀化医学高等专科学校)

龙友国 (黔南民族医学高等专科学校)

付达华 (漳州卫生职业学院)

庄景凡 (常德职业技术学院)

江兴林 (怀化医学高等专科学校)

李珍珠 (陕西能源职业技术学院)

李继绸 (常德职业技术学院)

张 申 (怀化医学高等专科学校)

欧卫华 (常德职业技术学院)

赵国华 (常德职业技术学院)

段如春 (怀化医学高等专科学校)

北京大学医学出版社

YIXUE SHENGWU HUAXUE SHIYAN ZHIDAO YU XUEXI ZHINAN

图书在版编目 (CIP) 数据

医学生物化学实验指导与学习指南/张申, 庄景凡

主编. —北京: 北京大学医学出版社, 2011. 1

ISBN 978-7-5659-0078-5

I. ①医… II. ①张…②庄… III. ①生物化学—化学实验—高等学校: 技术学校—教学参考资料

IV. ①Q5-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 240746 号

医学生物化学实验指导与学习指南

主 编: 张 申 庄景凡

出版发行: 北京大学医学出版社 (电话: 010-82802230)

地 址: (100191) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

网 址: <http://www.pumpress.com.cn>

E - mail: booksale@bjmu.edu.cn

印 刷: 北京地泰德印刷有限公司

经 销: 新华书店

责任编辑: 张彩虹 责任校对: 金彤文 责任印制: 苗 旺

开 本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 13 字数: 336 千字

版 次: 2011 年 1 月第 1 版 2011 年 1 月第 1 次印刷 印数: 1—6000 册

书 号: ISBN 978-7-5659-0078-5

定 价: 23.00 元

版权所有, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

序

医药卫生类高职高专教育是我国高等医学教育体系的重要组成部分。目前我国正在积极推进医药卫生体制改革，力争用几年时间基本建成覆盖全国城乡的基本医疗卫生制度，初步实现人人享有基本医疗卫生服务的目标。因此，对基层卫生服务人才的需求在大量增加，同时对其素质要求也在提高。卫生部针对基层人才严重缺乏的问题，指出当前和今后一段时间内还需要培养高等专科水平的医学人才，充实基层卫生服务技术人才队伍。

在新一轮医药卫生体制改革逐步推进的大背景下，为配合教育部“十二五”国家级规划教材建设，中国高等教育学会医学教育专业委员会与北京大学医学出版社共同发起成立全国医学院校高职高专系列教材编审委员会，组织二十余所医学院校启动了全国医学院校高职高专系列教材的编写、出版工作。本系列教材包括4个子系列，即基础课程（14种）、临床专业课程（10种）、全科医学专业课程（5种）和护理专业课程（11种），有些教材还编写了配套实验指导与学习指导。

这套教材编写的指导思想是：符合人才培养规律，体现教学改革成果，确保教材质量。各教材在编写中把握了以下原则：①根据专业培养目标、就业需要及本课程在教学计划中的地位、作用和规定学时数确定编写大纲及内容的深度、广度、重点和字数。②着重于基础理论、基本知识和基本技能的叙述。基础课教材要体现专业特色，要为专业课服务。③保证内容的科学性、启发性、逻辑性、先进性和适用性。应做到概念清楚，定义准确，理论有据，名词术语准确统一；启发学生理解、分析问题，有利于提高学生的学习兴趣和培养他们的钻研探索精神。④恰当处理相关课程内容之间的交叉与衔接，以避免知识点的不必要重复。⑤内容涵盖执业助理医师或护士执业资格考试最新版考试大纲的要求，以利于学生应考和就业。

这套教材的编写、出版和使用，离不开二十余所医学院校领导和教务部门的支持，凝聚了各教材编写组老师们的辛勤劳动和汗水。这套教材的出版时值国家“十二五”规划开局之年，我们会积极努力申报，争取有更多教材入选“十二五”国家级规划教材，为医药卫生类高职高专教育的改革和发展贡献力量！

王德炳

2010年12月

前 言

生物化学是一门实验性较强的学科，其理论的形成和发展几乎都以实验技术为基础。为适应实验教学的需要、提高学生的动手能力、加深学生对生物化学理论的理解，特编写了《医学生物化学实验指导与学习指南》，作为医学类高职高专生物化学实验教材和学习辅导用书。

《医学生物化学实验指导与学习指南》由两部分组成，其中实验指导部分包括生物化学实验基本知识和 12 个基本实验项目，并对实验内容提出了具体教学要求。每一个实验项目在相应的位置上都留有空格，用于实验记录。每个实验后附有实验结果、分析及结论等栏目，这由学生完成实验后填写，因此，实验指导兼有实验报告的功能。各学校可根据自己的教学经验和实验条件选择实验项目。

学习指南部分是与张申和庄景凡主编的北京大学医学出版社出版的《医学生物化学》（第 2 版）配套的学习辅导，可供医学院校在校学生和参加执业医师考试的考生参考使用。学习指南以目的与要求、内容要点和强化训练等形式对每章重点内容进行归纳和总结。内容要点是对教材内容的精心梳理，突出三基（基本概念、基本理论、基本知识）。强化训练可帮助学生巩固已学的理论知识，提高综合分析问题的能力，题型包括 A 型、B 型及 X 型选择题，填空题，名词解释和问答题等考试常见题型，命题原则是力求规范、指令明确。强化训练后附有参考答案，学生学习使用时，先不要急于看参考答案，待完成强化训练习题后，再对照参考答案，以便自我检测对教材内容的掌握程度。

本书在编写和出版过程中，得到了各参编院校的大力支持及怀化医学高等专科学校的鼎力相助，在此一并表示衷心感谢。

在本书编写过程中，尽管全体编写人员团结协作、尽职尽责，但由于我们水平有限，加之编写时间仓促，虽然经过数次修改，仍难免存在不妥甚至错漏之处，敬请同行专家、广大教师、学生和其他读者多提宝贵意见，以期日后改进与提高。

张 申 庄景凡

2010 年 10 月

目 录

第一部分 实验指导

生物化学实验基本知识	2
一、实验目的	2
二、实验室规则	2
三、实验记录及实验报告	2
四、有效数字	3
五、实验室基本操作	5
实验一 蛋白质两性电离及等电点测定	9
实验二 血清蛋白的盐析及清/球蛋白比值的测定	13
实验三 血清蛋白醋酸纤维薄膜电泳	16
实验四 温度、pH、激活剂与抑制剂对酶促反应的影响	19
实验五 碱性磷酸酶 K_m 值的测定	22
实验六 激素对血糖浓度的影响及血糖的测定	25
实验七 运动对尿中乳酸含量的影响	29
实验八 肝中酮体生成作用	32
实验九 血清丙氨酸转氨酶 (ALT) 测定 (赖氏法)	34
实验十 血浆碳酸氢根离子 (HCO_3^-) 测定 (滴定法)	37
实验十一 外周血白细胞 DNA 提取 (微量法)	39
实验十二 琼脂糖凝胶电泳	41

第二部分 学习指南

第二章 蛋白质的结构与功能	44
内容要点	44
强化训练	45
参考答案	52

第三章 核酸的结构与功能	55
内容要点	55
强化训练	56
参考答案	62
第四章 维生素	65
内容要点	65
强化训练	66
参考答案	72
第五章 酶	74
内容要点	74
强化训练	75
参考答案	83
第六章 生物氧化	86
内容要点	86
强化训练	88
参考答案	94
第七章 糖代谢	97
内容要点	97
强化训练	98
参考答案	107
第八章 脂质代谢	110
内容要点	110
强化训练	112
参考答案	118
第九章 氨基酸和核苷酸代谢	121
内容要点	121
强化训练	122
参考答案	131
第十章 遗传信息的传递与表达	134
内容要点	134
强化训练	136
参考答案	143
第十一章 血液的生物化学	146
内容要点	146
强化训练	147



参考答案.....	154	第十四章 酸碱平衡.....	178
第十二章 肝的生物化学.....	156	内容要点.....	178
内容要点.....	156	强化训练.....	179
强化训练.....	157	参考答案.....	186
参考答案.....	163	第十五章 细胞信号转导.....	189
第十三章 水和无机盐代谢.....	166	内容要点.....	189
内容要点.....	166	强化训练.....	190
强化训练.....	168	参考答案.....	196
参考答案.....	175		

第一部分 实验指导

生物化学实验基本知识

一、实验目的

1. 培养学生严谨科学的作风，独立工作能力及科学的思维方法。
2. 学习基础生物化学实验方法，为今后的学习与研究打下基础。
3. 培养学生爱护国家财物、爱护集体、团结互助的协作精神。
4. 培养学生的书面及口头表达能力。

二、实验室规则

1. 实验前必须认真预习实验内容，明确本次实验目的，掌握实验原理、操作关键步骤及注意事项，写好实验预习报告。
2. 实验中自觉遵守实验室纪律，保持室内安静。
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，注意观察实验过程中出现的现象和结果，并认真进行实验记录，对实验结果展开讨论，如结果不良，必须重做。实验完毕后应及时整理数据，按时上交实验报告。
4. 实验中，移液枪、吸量管、试剂等用完后应放回原处，实验台面、水池以及各种实验仪器内外都必须保持清洁整齐，严禁试剂瓶盖及滴管与试剂瓶张冠李戴，各种器皿、纸屑等不得丢弃在水池内。
5. 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，标明品名、浓度、姓名和日期。放在冰箱中的易挥发溶液和酸性溶液必须严密封口。
6. 配制和使用洗液时，必须极为小心，强酸强碱必须倒入废液缸或冲稀后排放。
7. 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。仪器发生故障时，应立即报告教师，未经许可不得自己随意检修。
8. 使用如乙醇、乙醚等易燃性有机溶剂时，应严禁明火，远离火源。若需加热，应用水浴加热，不可直接在明火上加热。
9. 实验完毕后，由值日生安排同学搞好实验室卫生，整理好实验用品，关好门窗，切断电源、水源，以确保安全，经指导教师检查、允许后方可离开。

三、实验记录及实验报告

(一) 实验记录

详细、准确、如实地做好实验记录是极为重要的。记录如果有误，会导致整个实验失败。这也是培养学生实验能力和严谨的科学作风的一个重要方面。

1. 每位同学必须准备一个实验记录本，实验前认真预习实验，看懂实验原理和操作方法，在记录本上写好实验预习报告，包括简要的实验流程图和数据记录表格等。
2. 记录本上要编好页码，不得撕缺和涂改，写错时可以划去重写。不得用铅笔记录，



只能用钢笔和圆珠笔记录。

3. 实验中应及时、准确地记录所观察到的现象和测量的数据，条理清楚，字迹端正，切不可潦草以致日后无法辨认。实验记录必须公正客观，不可夹杂主观因素。

4. 实验中要记录的各种数据，都应事先在记录本上设计好各种记录格式和表格，以免实验中由于忙乱而遗漏测量和记录，造成不可挽回的损失。

5. 实验记录要注意有效数字，如吸光度值应为“0.050”，而不能记成“0.05”。每个结果都要尽可能重复观测 2 次以上，即使观测的数据相同或偏差很大，也都应如实记录，不得涂改。

6. 实验中要详细记录实验条件，如使用的仪器型号、编号、生产厂家等；生物材料的来源、形态特征、健康状况、选用的组织及其重量等；试剂的规格、化学式、相对分子质量、浓度等，都应记录清楚。

(二) 实验报告

实验报告是实验的总结和汇报，通过实验报告的写作可以分析总结实验的经验，学会处理各种实验数据的方法，加深对有关生物化学与分子生物学原理和实验技术的理解和掌握，同时也是学习撰写科学研究论文的过程。实验报告的内容应包括：①实验目的；②实验原理；③仪器和试剂；④实验步骤；⑤数据处理；⑥结果讨论。

每个实验报告都要按照上述要求来写，实验报告的写作水平也是衡量学生实验成绩的一个重要方面。实验报告必须独立完成，严禁抄袭。实验报告使用的语言要简明清楚，抓住关键，各种实验数据都要尽可能整理成表格（三线表）并作图表示之，以便比较，一目了然。通常利用 Excel 或 SPSS 软件作图，每个图都要有标题，坐标轴的名称要清楚完整，要注明合适的单位。

实验结果和讨论是实验报告书写的重中之重，一定要充分重视，尽可能多查阅一些有关文献和教科书，充分运用已学过的知识，进行深入的探讨，勇于提出自己独到的分析和见解，并欢迎对实验提出改进意见。

四、有效数字

有效数字应是实际可能测定到的数字，它包括“可靠数字”和最后一位“欠准数字”。记录数据时应选取几位有效数字，取决于实验方法与所用仪器的精确程度，特别是现在由于电子计算机的使用，往往不注意有效数字，而随意记录所用仪器不可能达到的精确数字，因此更有强调有效数字的必要性。

例如，用分析天平称得某物为 1.1415 g，是五位有效数字，而用台秤称得该物为 1.14 g，则只有三位有效数字。

又如，读取某刻度吸管为 1.00 ml，是三位有效数字；读取 0.54 ml，是两位有效数字。

六位有效数字	111.004	1.26014	12.5000
五位有效数字	2189.0	12.001	1.2000
四位有效数字	21.00	3.561	732.5
三位有效数字	23.0	100±1	2.30×10 ³
两位有效数字	0.0010	1.5	1.2×10 ⁵
有效数字不明确	200	10	5000



(一) 有效数字的运算

1. 加减法 多个测量值相加减所得结果的有效数字应以各测量值最大欠准数字为准。如:

$$\begin{array}{r} 13.72 \\ 1.534 \\ + 0.3005 \\ \hline 15.55 \end{array}$$

2. 乘除法 多个测量值相乘除所得结果的有效数字应与有效数字位数最少的那个测量值相同。如:

$$\frac{0.1545 \times 3.1}{0.112} = 4.3$$

还应指出,有效数字位数最少的那个数的首位是8或9,而其结果的首位不是8或9时,应多保留一位。如:

$$0.9 \times 1.2 \times 36.1 = 39.99$$

$$0.9 \times 9 = 8.1$$

若一个数值没有欠准数字,便可认为是无限有效。例如将7.12克样品二等分,每份重量为:

$$\frac{7.12}{2} = 3.56$$

式中除数2不是测量所得,因此可认为是无限有效数字。

(二) 有效数字的修约

按“四舍六入五成双”规则进行修约,如:

$$(1) 14.2432 \rightarrow 14.2$$

$$(2) 26.4843 \rightarrow 26.5$$

$$(3) 1.0501 \rightarrow 1.1$$

$$(4) 0.15 \rightarrow 0.2$$

$$(5) \text{不得连续修约 如 } 15.4546 \neq 16, \text{ 应为 } 15.4546 \rightarrow 15$$

(三) 有效数字运算步骤

1. 把各数字修约到比最后结果的位数多一位。例如 $13.65 + 0.00823 + 1.633$, 其中13.65小数点后只有两位,所以要把0.00823修约成0.008,1.633不变。又如 $0.0121 \times 26.64 \times 1.05782$, 其中0.012为三位有效数字,故把1.05782修约成1.058,26.64不变。

2. 进行加、减、乘、除运算,如

$$\begin{array}{r} 13.65 \\ 0.008 \\ + 1.633 \\ \hline 15.291 \end{array}$$

$$\begin{array}{r} 25.64 \\ \times 0.012 \\ \hline 0.31024 \end{array}$$

$$\begin{array}{r} 0.310 \\ \times 1.050 \\ \hline 0.32789 \end{array}$$

3. 最后对计算结果进修约,如

$$15.291 \rightarrow 15.29$$

$$0.31024 \rightarrow 0.310$$

$$0.32798 \rightarrow 0.328$$



五、实验室基本操作

(一) 玻璃仪器的清洗

实验中所用的玻璃仪器清洁与否,直接影响实验的结果。往往由于仪器的不清洁或被污染而造成较大的实验误差,有时甚至会导致实验的失败。

1. 初用玻璃仪器的清洗 新购买的玻璃仪器表面常附着有游离的碱性物质,可先用洗涤灵或洗衣粉洗刷,再用自来水洗净,然后浸泡在1%~2% (体积分数) 盐酸溶液中过夜(时间不可少于4 h),再用自来水冲洗,最后用蒸馏水洗两次,在100~120℃烘箱内烘干备用。

2. 使用过的玻璃仪器的清洗 先用自来水洗刷至无污物,再用合适的毛刷蘸洗衣粉洗刷,或浸泡在洗涤灵中超声清洗(比色皿绝不可超声清洗),然后用自来水彻底洗净去污剂,用蒸馏水洗两次,烘干备用(计量仪器不可烘干)。玻璃仪器洗净后,以倒置后内壁不挂有水珠为清洁标准。

3. 石英和玻璃比色皿的清洗 比色皿用毕后立即用自来水冲洗干净,再用蒸馏水反复冲洗,绝不可用强碱清洗(因为强碱会腐蚀抛光的比色皿),也不可用试管刷或粗布擦拭。

(二) 铬酸洗液的配制

铬酸洗液为最常用的洗液,由重铬酸钾、粗硫酸及水配制而成,去污力强,清洗效果好。其配制方法有多种,可根据需要进行选择,常用的配方如下:

	方法 1	方法 2	方法 3
重铬酸钾 (g)	100	60	100
水 (ml)	750	300	200
粗硫酸 (ml)	250	460	800
清洁性能	较弱	较强 (常用)	最强

配制方法:先将重铬酸钾溶于水,再慢慢加入浓硫酸。因配制过程产生大量热,容器需放入冷水中,边加硫酸边搅拌混合。由于产热量很大,使用玻璃容器有破裂的危险,所以最好用耐高温的陶瓷或耐酸的搪瓷容器。浓硫酸有很强的吸水性,配好后的洗液应加盖存放,以免吸收空气中的水分。洗液可多次反复使用,如效力变弱,可加入少量重铬酸钾及浓硫酸继续使用,但如果变为绿色,则不宜再用。

(三) 移液操作

1. 吸量管的种类 (图 1)

(1) 奥氏吸量管 奥氏吸量管供准确量取0.5 ml、1.0 ml、2.0 ml、5.0 ml、10.0 ml液体之用。每支吸量管上只有一个刻度,放出液体时最后须吹出残留在管尖的液体。这类吸量管的特点是在同容量的吸量管中其容量表面积最小,故准确度最高。常作为量取黏度较大的液体之用。

(2) 移液管或移液吸量管 移液管供准确量取1.0 ml、5.0 ml、10.0 ml、20.0 ml、25.0 ml、50.0 ml及100.0 ml液体之用。每支吸量管上只有一个刻度,放出液体时待管内液

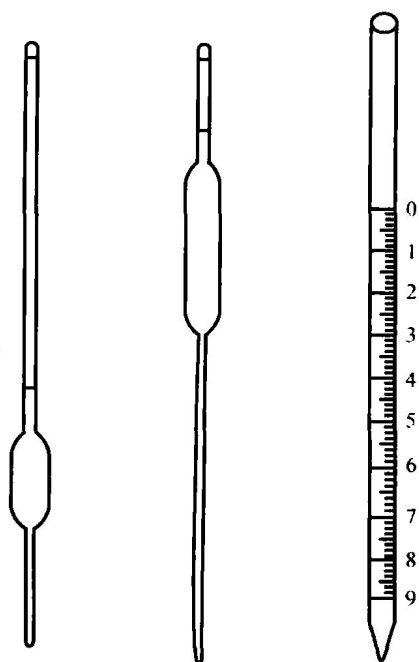


图1 吸量管的种类

体流出后，吸量管管尖在容器内壁上继续停留 15~30 s，管尖残留液体不得吹出。这类吸量管常作为化学容量分析定量稀释之用。

(3) 刻度吸量管 刻度吸量管供量取 10 ml 以下的任意体积的液体之用，有 0.1 ml、0.2 ml、25 ml、0.5 ml、1.0 ml、2.0 ml、5.0 ml 及 10.0 ml 几种。这类吸量管分刻度到尖端者和不到尖端者两种。因生产单位不同，有自上而下或自下而上的两种刻度法。因此，使用时应仔细分清，千万不要弄错。若使用刻度到尖端者，则在所量取的液体全部放出后，须将残留在管尖的液体吹出；若使用 1 ml 吸量管吸取 1 ml 液体，则将液体恰巧放出至下端刻度即可，绝不可放出液体达到最低的刻度以下。

2. 吸量管的使用方法 (图 2)

(1) 执管：拇指和中指执吸量管上部，使吸量管保持垂直，示指按在管口上调节流速，刻度朝向操作者。

(2) 取液：将吸量管插入液体，用洗耳球吸取液体至所需刻度上方，移开洗耳球，迅速用示指压紧管

口，然后抽离液面。

(3) 调准刻度：用示指控制液体至所需刻度（此时液体凹面、视线和刻度应在同一水平线上）。

(4) 放出液体：移开示指，让液体自然流入容器内。此时，管尖应接触容器内壁，但不应插入容器的原有液体中（否则管尖会沾上容器内试剂，再移液时致使试剂交叉污染）。待液体流尽，将最后液滴吹出或转动吸量管使其沿容器内壁流出。

(5) 洗涤：吸取血浆、尿及黏稠试剂的吸量管，用后应及时用自来水冲洗干净。吸取一般试剂的吸量管，可待实验完毕后再洗。

注意：①对于刻度由上至下的吸量管应尽量使用上端刻度。②管尖残液是否需要吹出，视具体情况而定。一般来说，1 ml 及 1 ml 以下的均需吹出；>1 ml 的视标记而行，如吸量管上方标有“吹”，则残液需吹出；标有“快”字，应使残液自然流下。

3. 吸量管的选用原则

(1) 量取整数量液体时，应选用奥氏吸量管。若量取液体体积较大，可用移液管。

(2) 选用刻度与取液量最接近的吸量管，如欲取 0.15 ml 液体，应选用 0.2 ml 刻度吸量管，而不能用 0.5 ml 刻度吸量管。

(3) 做生化定量实验时，如几个试管需加入不同量的同一种液体，要根据加入液体的量酌情选用吸量管，各管所加入的液体量分别为 0.2 ml、0.4 ml、0.6 ml 及 0.8 ml 时，应选用

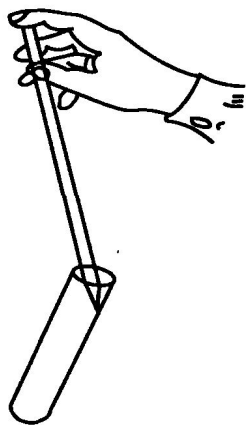


图2 使用吸量管的姿势

一支与最大的取液量接近的刻度吸量管，即 1 ml 刻度吸量管。但另一种情况却不能这样做，如各管加入液体的量为 1.0 ml、2.0 ml、5.0 ml 及 8.0 ml 时，则不能选用同一支 10.0 ml 刻度吸量管吸取不同的量加入各管中，而应该分别用 1.0 ml、2.0 ml、5.0 ml 及 10.0 ml 刻度吸量管吸取。因为用 10.0 ml 刻度吸量管量取 1.0 ml、2.0 ml 甚至 5.0 ml 溶液时，因管内径太大，其读数很难控制准确。

(4) 当取液量不足吸量管的满刻度时，如用 1.0 ml 刻度吸量管量取 0.6 ml 液时，应选用吸量管上端刻度（指刻度到尖端者）。若用 1.0 ml 刻度不到尖端的吸量管，上端或下端刻度都可以使用。

4. 可调式移液器的使用（图 3）

(1) 可调式移液器的结构见图 3 左边图。



图 3 可调式移液器的结构和使用

(2) 可调式移液器的使用 ①旋转调节轮至所需体积值；②套上吸头、旋紧；③垂直握持可调式移液器并用大拇指按至第一档；④将吸头插入溶液，徐徐松开大拇指，使其复原，将可调式移液器移出液面；⑤排放时，重新将大拇指按下，至第一档后，继续按至第二档直至排空液体。

注意：移取另一样品时，按卸吸头按钮，弃掉吸头并更换新吸头。

(四) 液体的混匀

样品和试剂的混匀是保证化学反应充分进行的一种有效措施。为使反应体系内各物质迅速接触，必须借助于外力的机械作用。常用的混匀方法有以下几种：

1. 旋转法（图 4）手持容器，使溶液作离心旋转。适用于未盛满液体的试管或小口器皿如锥形瓶。

2. 指弹法 一手执试管上端，另一只手轻弹试管下部，使管内溶液作旋涡运动。

3. 搅动法 使用玻璃棒搅匀，多用于溶解烧杯中的固体。

4. 混匀器法 将容器置于混匀器的振动盘上，逐渐用力下压，使内容物旋转。



图 4 旋转法

注意：混匀时谨防容器内液体溅出或被污染，严禁用手堵塞管口或瓶口振摇。

(五) 离心沉淀法

颗粒小而不均一、沉淀黏稠或容积小又需精确定量时, 往往采取离心沉淀法。

低速离心机的使用:

1. 离心前检查 取出所有套管, 启动空载的离心机, 观察是否转动平稳; 检查套管有无软垫, 是否完好, 内部有无异物; 离心管与套管是否匹配。

2. 离心原则

(1) 平衡: 将一对离心管放入一对套管中, 置于天平两侧, 用滴管向较轻一侧的离心管与套管之间滴水至两侧平衡。

(2) 对称: 将已平衡好的一对管置于离心机中的对称位置。

3. 离心操作 对称放置配平后的套管, 取出多余的套管, 盖严离心机盖。调节转速调节钮, 逐渐增加转速至所需值, 计时。离心完毕后, 缓慢将转速调回零。待离心机停稳后取出离心管, 并将套管中的水倒净, 所有套管放回离心机中。

4. 注意事项

(1) 离心的启动、停止都要慢, 否则离心管易破碎或液体从离心管中溅出。

(2) 离心过程中, 若听到特殊响声, 应立即停止离心, 检查离心管。若离心管已碎, 应清除并更换新管; 若管未碎, 应重新平衡。

实验一 蛋白质两性电离及等电点测定

实验目的

1. 掌握蛋白质两性电离和等电点的性质。
2. 熟悉蛋白质两性电离和等电点的测定。

实验原理

蛋白质和氨基酸一样也是两性电解质。在碱性溶液中，蛋白质分子中氨基电离被抑制而羧基易于电离，使整个蛋白质分子带负电荷，在电场中向正极移动；在酸性溶液中，羧基电离被抑制而氨基易于电离，使蛋白质带正电荷，在电场中移向负极。

若调节溶液的氢离子浓度达到某一定值时，蛋白质分子所带正、负电荷数相等，处于等电状态，这时溶液的 pH 值称为该蛋白质的等电点（用 pI 表示）。

蛋白质在等电点时为两性离子，溶解度最低，容易沉淀析出。若在大于或小于等电点的溶液中，蛋白质分子因带同性电荷而相互排斥，不易产生沉淀。

实验器材

试管及试管架、细滴管、容量瓶。

实验试剂

1. 0.5%酪蛋白醋酸钠溶液 称取纯酪蛋白 0.5 g，加蒸馏水 40 ml 及 1.0 mol/L NaOH 溶液 10.0 ml，振摇使之溶解，然后加入 1.0 mol/L 醋酸溶液 10.0 ml，摇匀，转入 100 ml 容量瓶内，用蒸馏水稀释至刻度，混匀即得。
2. 0.02 mol/L HCl 溶液。
3. 0.02 mol/L NaOH 溶液。
4. 1.00 mol/L 醋酸溶液。
5. 0.10 mol/L 醋酸溶液。
6. 0.010 mol/L 醋酸溶液。
7. 0.01%溴甲酚绿指示剂 溴甲酚绿指示剂在溶液的 pH 3.8 时呈黄色；pH 在 3.8~5.4 为黄绿—绿—蓝绿色，pH>5.4 时为蓝色。

操作步骤

(一) 蛋白质两性电离

1. 取一支试管, 加入 0.5% 酪蛋白溶液 5 滴和 0.01% 溴甲酚绿指示剂 2 滴, 摇匀, 观察溶液呈现的颜色, 并说明原因。_____。
2. 用细滴管在上述试管中缓慢加入 0.02 mol/L HCl 溶液, 边滴边摇, 直到有明显大量沉淀产生, 此时溶液的 pH 值接近于酪蛋白的等电点。观察溶液颜色的变化。_____。
3. 继续滴入 0.02 mol/L HCl 溶液, 观察沉淀及溶液颜色的变化, 并说明原因。_____。
4. 再逐滴加入 0.02 mol/L NaOH 溶液进行中和, 观察是否出现沉淀, 并解释原因。当继续滴加 0.02 mol/L NaOH 溶液时, 沉淀又会溶解, 溶液的颜色发生变化, 解释其原因。_____。

实验结果及分析

(二) 酪蛋白等电点测定

试剂 (滴)	1	2	3	4	5
1.00 mol/L 醋酸溶液	12	—	—	—	—
0.10 mol/L 醋酸溶液	—	20	5	—	—
0.010 mol/L 醋酸溶液	—	—	—	13	3
蒸馏水	8	—	15	7	17
0.5% 酪蛋白溶液	5	5	5	5	5
最终 pH 值	3.2	4.1	4.7	5.3	5.9

混匀、静置数分钟

结果判断

(用 “+” “-” 号表示)

分析及结论