

国/家/级/教/学/团/队/建/设/项/目
高/等/学/校/教/材

生物技术 综合实训教程

王永芬 主编 边传周 主审



化学工业出版社

国/家/级/教/学/团/队/建/设/项/
高/等/学/校/教/材

生物技术 综合实训教程

王永芬 主编 边传周 主审

内 容 提 要

本教材共包括五个单元，每个单元由多个学习情境构成（共计 21 个学习情境），每个学习情境又细分为若干个工作任务（共计 61 个工作任务），每个工作任务以下发工作任务书—明确工作任务流程—准备材料—完成工作任务—撰写工作报告等形式展现。其中单元一为生物技术实训基础，目的是训练学生熟练掌握生物技术实训必备的基础知识和基本实验技能；单元二为生物技术实训单项技能，目的是强化学生对微生物技术、动物细胞培养技术、基因克隆及表达技术、分离纯化技术、电泳技术、含量测定技术、免疫检测技术等专项技能的掌握；后三个单元为综合实训，分别包括生物活性物质的制备技术、生物制品的制备技术和发酵类产品的制备技术，目的是结合生物技术专业的岗位需求，以典型产品的生产过程为主线，在实训室模拟真实生产任务或工作过程，强化学生综合技能，培养学生分析问题解决问题的能力，提高学生就业的核心竞争力。

本教材适合本科院校、高职高专院校生物技术及相关专业使用，也可供从事生命科学的研究技术人员参考。

图书在版编目 (CIP) 数据

生物技术综合实训教程/王永芬主编. —北京：化学工业出版社，2010.12
高等学校教材
ISBN 978-7-122-09638-8

I. 生… II. 王… III. 生物技术-教材 IV. Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 196998 号

责任编辑：梁静丽 李植峰
责任校对：边 涛

文字编辑：李 瑾
装帧设计：张 辉

出版发行：化学工业出版社（北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011）
印 装：北京云浩印刷有限责任公司
787mm×1092mm 1/16 印张 14 1/4 字数 372 千字 2011 年 1 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询：010-64518888(传真：010-64519686) 售后服务：010-64518899

网 址：<http://www.cip.com.cn>

凡购买本书，如有缺损质量问题，本社销售中心负责调换。

定 价：28.00 元

版权所有 违者必究

前　　言

以教高 2006【16 号】文件精神为指南，以工学结合为突破口，强化实践教学，是高职教学改革的重点内容。专业实训教学是强化学生实践技能、提升学生职业素养，实现专业教学与生产实习岗位对接的重要途径。目前，我国绝大多数高等院校都开设有生物技术专业，但是针对生物技术类专业的实训教材却较少，基本上都是专业课中若干个实验的综合，较少体现学生对专业技能综合运用能力的培养，难以体现工学结合，制约了教学质量的提高和学生就业竞争力的提升。本教材在多年教学实践和与多家生物技术企业联合开办订单培养班的基础上，以动物生物技术类和微生物技术类产品生产过程中岗位所需技能为切入点，以产品的生产工作过程为导向，以企业中真实的工作任务为驱动，以企业岗位工作要求与职业资格标准为依据，由校企共同开发建设，既做到了内容简明扼要、图文并茂、基础知识和综合技能有机衔接，又体现了高职教育的职业性、实践性、开放性。

本教材共包括五个单元，每个单元由多个学习情境构成，而每个学习情境又细分为若干个工作任务，每个工作任务以下发工作任务书—明确工作任务流程—准备工作材料—完成工作任务—撰写工作报告等形式展现。其中单元一为生物技术实训基础，目的是训练学生熟练掌握生物技术实训必备的基础知识和基本实验技能；单元二为生物技术实训单项技能，目的是强化学生对微生物技术、动物细胞培养技术、基因克隆及表达技术、分离纯化技术、电泳技术、含量测定技术、免疫检测技术等专项技能的掌握；后三个单元为综合实训，分别包括生物活性物质的制备技术、生物制品的制备技术和发酵类产品的制备技术，目的是结合生物技术专业的岗位需求，以典型产品的生产过程为主线，在实训室模拟真实生产任务或工作过程，强化学生综合技能，培养学生分析问题解决问题的能力，提高学生就业的核心竞争力。在编写过程中，我们还根据实践经验对实训操作的关键步骤进行温馨提示，在每个学习情境的最后设有思考题与自我探索，思考题用于学生复习巩固；自我探索要求学生组成团队，按照工作任务提示独立开展工作，既有助于学生开阔视野、拓展知识面，又利于学生组织协调能力与团队精神的培养。

本教材的编写坚持“实用为主，必需、够用为度”的原则，体现了“以就业为导向、职业能力为本位”的教学指导思想，适用于高职院校或本科院校生物技术类专业的实训教学或相关课程的实验教学以及生物技术类企业的员工培训或其他相关技术人员的学习参考。

在本书的编写过程中得到了郑州牧业工程高等专科学校、南阳师范学院、新乡学院、信阳职业技术学院等院校领导与同仁的帮助，同时也受到了华兰生物工程股份有限公司、洛阳普莱柯生物工程公司、河南金星集团有限公司等企业有关技术人员的指导和化学工业出版社领导与编辑的大力支持，国家级教学名师——郑州牧业工程高等专科学校边传周教授对全书进行了指导和审定，在此本书作者特向他们表示衷心地感谢！

本书的编写得到了国家级生物技术及应用专业教学团队建设项目和省级生物技术及应用特色专业建设项目的专项经费支持。

由于生物技术行业发展迅速，企业生产工艺更新快，行业标准不断修订，编者深感知识浅薄、水平有限，虽然经过多次讨论修改，但疏漏之处在所难免，敬请专家同仁批评指正，并欢迎广大读者提出宝贵意见。

编　　者
2010 年 9 月

目 录

单元一 生物技术实训基础

学习情境一 认识生物技术实训室	1	学习情境二 生物技术基本实验技能	32
工作任务 1 认识生物技术实训室管理 规范	1	工作任务 1 实验器皿的清洗、干燥与 灭菌	32
工作任务 2 认识和熟悉常见实训操作室	7	工作任务 2 常用缓冲液的配制	34
工作任务 3 生物技术实训室主要仪器 设备的使用	12	工作任务 3 微量移液器使用	36
		工作任务 4 培养基（液）配制	37

单元二 生物技术实训单项技能

学习情境一 微生物的培养及纯化 技术	41	工作任务 2 沉淀法从牛奶中粗制酪蛋白和 乳蛋白素	83
工作任务 1 病毒的鸡胚培养	41	工作任务 3 离子交换色谱分离氨基酸	85
工作任务 2 产淀粉酶细菌的复壮	45	工作任务 4 青霉素的萃取分离	87
工作任务 3 食用菌母种的分离纯化	47	学习情境七 生物大分子的电泳检测 技术	89
学习情境二 微生物数量的测定技术	51	工作任务 1 DNA 的琼脂糖凝胶电泳 检测	89
工作任务 1 水中细菌总数的检测	51	工作任务 2 蛋白质的 SDS-聚丙烯酰胺 凝胶电泳检测	92
工作任务 2 多管发酵法测定水中大肠 菌群	54	学习情境八 生物大分子含量的检测 技术	98
学习情境三 微生物的大规模培养 技术	58	工作任务 1 Folin-酚试剂法测定蛋白质 含量	98
工作任务 1 微生物三角瓶培养	58	工作任务 2 微量凯氏定氮法测定蛋白质 含量	100
工作任务 2 发酵罐操作	60	工作任务 3 紫外分光光度法测定蛋白质 含量	104
学习情境四 动物细胞培养技术	65	工作任务 4 饲用纤维素酶活力的测定	105
工作任务 1 鸡胚成纤维细胞的原代培养	65	工作任务 5 肉制品中总糖含量测定	107
工作任务 2 传代培养技术——PK15 细胞的培养	69	学习情境九 免疫学检测技术	110
学习情境五 基因的克隆表达技术	72	工作任务 1 鸡新城疫抗体效价的测定	110
工作任务 1 猪 γ -干扰素基因的克隆及在 大肠杆菌中的表达	72	工作任务 2 琼脂扩散试验	113
工作任务 2 鸡白介素-18 基因真核表达 载体的构建及其表达	78	工作任务 3 兔抗人免疫球蛋白抗体的 测定	116
学习情境六 常用的分离纯化技术 单元操作	82	工作任务 4 对流免疫电泳	118
工作任务 1 酵母细胞的破碎及破碎率 的测定	82		

单元三 生物活性物质的制备技术

学习情境一 天然生物材料成分的提取技术	122	工作任务 4 银杏叶黄酮类物质的分离纯化	130
工作任务 1 猪血清免疫球蛋白的分离纯化及鉴定	122		
工作任务 2 细胞色素 C 的制备及鉴定	124	学习情境二 重组蛋白的分离纯化技术	133
工作任务 3 植物超氧化物歧化酶的制备	127	工作任务 猪 γ -干扰素基因工程菌的发酵培养和产物的分离纯化	133

单元四 生物制品的制备技术

学习情景一 疫苗的生产技术	136	抗体的制备	144
工作任务 1 猪链球菌氢氧化铝胶苗的制备	137	工作任务 2 猪瘟高免血清的制备	146
工作任务 2 鸡新城疫油乳剂灭活苗制备	138	工作任务 3 人 IgG 单克隆抗体制备	147
工作任务 3 人用狂犬病疫苗制备	140	学习情景三 诊断类制品的制备	152
学习情景二 抗体类制品制备技术	144	工作任务 1 马立克病琼脂扩散试验抗原的制备技术	152
工作任务 1 鸡传染性法氏囊高免卵黄		工作任务 2 胶体金标记技术	153

单元五 发酵类产品的制备技术

学习情境一 发酵乳制品生产技术	158	学习情境四 饲用微生态制剂及酶制剂生产技术	192
工作任务 1 凝固型酸牛奶的制作	158	工作任务 1 枯草芽孢杆菌菌粉的制备	192
工作任务 2 奶酪的制作	161	工作任务 2 纤维素酶的固态发酵生产	198
学习情境二 发酵调味品生产技术	164	工作任务 3 蛋白酶的液态深层通风发酵生产	200
工作任务 1 酱油的生产制作	164	学习情境五 现代工业发酵产品生产技术	205
工作任务 2 食醋的制作	168	工作任务 1 谷氨酸发酵生产	205
工作任务 3 豆腐乳的制备	172	工作任务 2 柠檬酸发酵生产	209
学习情境三 酒类产品生产技术	175	工作任务 3 土霉素发酵生产	213
工作任务 1 白酒的生产	175		
工作任务 2 啤酒的生产	177		
工作任务 3 酒精的发酵生产	185		
工作任务 4 干白葡萄酒的生产	187		

附

I 常用染色液的配制	217	III 常用缓冲液的配制	223
II 常用培养基的配制	219	IV 其他常用数据	225

录

单元一 生物技术实训基础

生物技术是现代生物学发展及其与相关学科交差融和的产物，其核心是以重组 DNA 技术为中心的基因工程，还包括微生物工程、生化工程、细胞工程及蛋白质（酶）工程等领域。我国《生物产业“十一五”发展规划》中指出：加速生物产业发展是保障人民生命健康的需要，是提高农业综合生产能力的需要，是走新型工业化道路的需要。未来生物技术行业优势将更加明显，市场前景更为广阔，因此，全力培养“基础实、能力强、具有创新和创业意识、良好职业道德风范”的生物技术专业高素质技能型人才势在必行，而生物技术实训是实现这一人才培养目标的重要手段。通过实训教学，使学生的技能操作训练内容与实际生产要求一致（仿真性），实现实训与生产相结合，使学生的技能操作训练与生产要求实现零距离结合，从而提高学生就业的核心竞争力。

通过本单元的学习，使学生掌握生物技术的基本知识与基本技能，熟悉生物技术实训室常用仪器设备的功能与使用方法，了解生物技术实训室或生产车间的工作环境与标准要求，为其顺利进行生物技术实训打下良好基础。

学习情境一 认识生物技术实训室

学习情境说明：

生物技术实训室是生物技术类专业学生进行实验、实习、实训的重要场所，主要包括生物化学与分子生物学实训室、微生物实训室、动物细胞培养实训室、植物组织培养实训室、发酵实训室、生物制品实训室等，但由于不同学校专业特点和专业方向不同，生物技术实训室的设置与名称、实训室格局会有所差异。

通过本学习情境的学习，学生要掌握生物技术实训室的工作规则、安全防护知识、实训中的基本要求，认识各类实训室的功能与布局、认知常用实验设备和掌握生物技术的基本实验技能。

工作任务1 认识生物技术实训室管理规范

科学的管理、良好的习惯和规范的操作是生物技术各类实验成功的基础。因此，认识并熟悉生物技术实训室的管理规范、要求规范以及应急处理等事宜，是学生必须具备的最基本的实验素质。

工作任务书：见表 1-1。

表 1-1 认识生物技术实训室管理规范工作任务书

完成项目	达到目标
工作准备	查找相关材料了解生物技术实训室环境要求和管理规范； 查找相关材料了解实验室安全及防护； 查找相关材料了解实验室生物安全防护； 填写相关实训预习报告

续表

完成项目	达到目标
工作过程	认真学习学生实训守则； 学习实验室安全及防护的基本知识； 学习实验室生物安全基本知识； 掌握和熟悉实验室仪器管理规范及实验实训基本要求
工作结束	整理好相关文件资料，打扫实训室卫生
报告撰写	按要求完成学习心得的撰写

工作流程简图：

学生实训守则学习→实验室安全及防护知识学习→实验室生物安全→实验室仪器管理规范学习→实验实训基本要求。

工作流程 1 学生实训守则

- ① 学生进入实训室必须遵守实训室纪律，维护秩序，保持安静，按要求穿戴工作服。
- ② 实训过程中听从教师指导，严格遵守操作规程，思路清晰，操作仔细，观察细致，记录及时，结果合理；按时完成实训，严谨求实，勇于创新思考。
- ③ 注意实训室卫生。保持操作台面整洁，实训室内严禁进食、喝水、吸烟，不得存放与实训无关的物品。
- ④ 试剂药品等消耗品的使用要厉行节约，公用试剂药品用毕立即放回原处，应特别注意保持药品、试剂的纯净，用后立即盖盖，严禁混杂。
- ⑤ 对实验仪器应加倍爱护。精密及贵重仪器必须按操作规程使用，听从老师指导，做好仪器设备使用情况登记，若出现异常情况应及时向指导老师汇报；在使用易碎的玻璃仪器时应谨慎仔细，防止损坏，公用仪器一旦损坏，应填写破损纪录。
- ⑥ 注意安全。乙醚、乙醇、丙酮等易燃物品，使用时必须远离火源；使用电炉、高速离心机等易出现危险的仪器，不得擅离岗位，用毕切记断电。
- ⑦ 实训完毕后应将所用设备器具清洗干净，实验台面擦拭干净，并整理好桌面物品，经老师验收后方可离去。
- ⑧ 值日生负责实训室卫生和检查是否关水、电、门、窗、电扇等，严防不安全隐患事故发生，经管理老师批准后，方可离开实训室。
- ⑨ 完成实训后按要求独立完成实训报告，报告内容要真实，字迹清楚，内容简明，数据完整真实，处理科学。若实训失败，需按照实训指导老师要求重做并分析失败的原因。
- ⑩ 积极参加实训中心组织的实训讨论和设计实验，有意识地培养自己分析问题和解决问题的能力，培养创新意识和科学思维。

工作流程 2 实验室安全及防护知识

在生物技术实验室中，着火、爆炸、中毒、触电和割伤的危险时刻存在。因此，每一位在生物技术实验室工作的人员都必须有充分的安全意识、严格的防范措施和丰富实用的防范救护知识，一旦发生意外能正确进行处置，以防事故进一步扩大。

1. 用水安全

- ① 使用自来水后要及时关闭阀门，尤其遇突然停水时，要立即关闭阀门，以防来水后跑水。
- ② 离开实验室之前应再检查自来水阀门是否完全关闭，尤其是在使用冷凝器时较容易

忘记关闭冷却水。

2. 安全用电

- ① 定期检查电线、电器设备有无损坏，电线和插头有无损坏。
- ② 使用电器时，先详细阅读有关的说明书及资料，并按照要求去做，不可盲目地接入电源。
- ③ 不要将电器放在潮湿处，禁止用湿手使用电器，也不宜站在潮湿的地方使用电器。
- ④ 不得任意另拉、另接电线用电。
- ⑤ 修理或更改电器设备时，必须关闭总闸，拉开保险盒。
- ⑥ 所有电器的用电量应与实验室的供电及用电端口匹配，决不可超负荷运行，以免发生事故。谨记：任何情况下发现用电问题（事故）时，首先关闭电源。

3. 防火

- ① 易燃物质不宜大量存放于实验实训室，应贮存在密闭容器中，放于阴凉处。
- ② 加热低沸点或中沸点等易燃物体，如二硫化碳、丙酮、苯、酒精等，最好是用水蒸气加热，至少用恒温水浴加热，并及时查看检查，不得离开操作岗位，切不能用直火或油浴加热，因为它们的蒸气是极易着火的，特别是加热或蒸馏乙醚，室内不得有明火。
- ③ 在工作中使用或倾倒易燃物质时，注意要远离明火。
- ④ 定期检查电路是否完好。
- ⑤ 实验实训室所有工作人员应熟悉灭火器的使用。
- ⑥ 灭火：实验实训室起火后，应立即熄灭附近所有火源（关闭煤气），切断电源，并移开附近的易燃物质，防止火势扩展。根据起火原因和火场周围的情况采取不同的灭火措施。

4. 中毒的预防和中毒急救

(1) 中毒的预防 中毒主要是由于不慎吸入、误食或皮肤渗入有害化学试剂，因此，在实验室工作或实训时必须做好预防工作。

- ① 保护好眼睛最重要，使用有毒或有刺激性气体时，必须戴防护眼镜，并应在通风橱内进行。
- ② 取用毒品时必须戴橡皮手套。
- ③ 严禁用嘴吸移液管，严禁在实验室内饮水、进食、吸烟，禁止赤膊和穿拖鞋。
- ④ 不要用乙醇等有机溶剂擦洗溅洒在皮肤上的药品。

(2) 中毒急救措施

① 误食了酸和碱，不要催吐，可先立即大量饮水，误食碱者再喝些牛奶，误食酸者，饮水后再服用 $Mg(OH)_2$ 乳剂，最后喝些牛奶。

② 吸入了毒气，立即转移至室外，解开衣领，休克者应施以人工呼吸，但不要用口对口法。

③ 铅和汞中毒者应立即送医院急救。

5. 外伤应急处理

(1) 化学灼伤

① 眼睛灼伤或掉进异物：眼内若溅入任何化学药品，应立即用大量水冲洗 15min，不可用稀酸或稀碱冲洗。若有玻璃碎片进入眼内则十分危险，必须十分小心谨慎，不可自取，不可转动眼珠，可任其流泪，若碎片不出，则用纱布轻轻包住眼睛急送医院处理。若有木屑、尘粒等异物进入，可由他人翻开眼睑，用消毒棉签轻轻取出或任其流泪，待异物排出后

4 单元一 生物技术实训基础

再滴几滴鱼肝油。

② 皮肤灼伤

酸灼伤：先用大量水洗，再用稀 NaHCO_3 或稀氨水浸洗，最后再用水洗。

碱灼伤：先用大量水冲洗，再用 1%（质量分数）硼酸或 2%（体积分数）醋酸浸洗，最后再用水洗。

（2）烫伤 使用火焰、蒸汽、红热的玻璃和金属时易发生烫伤，应立即用大量水冲洗和浸泡，若起水泡不可挑破，包上纱布后就医，轻度烫伤可涂抹鱼肝油和烫伤膏等。

（3）割伤 这是生物技术实验室常见的伤害，要特别注意预防，尤其是在橡皮塞中插入温度计、玻璃管时一定要用水或甘油润滑，用布包住玻璃管轻轻旋入，切不可用力过猛，若发生严重割伤时要立即包扎止血，就医时务必检查伤部神经是否被切断。

工作流程 3 实验室生物安全

生物安全是指生物性的传染媒介通过直接感染或间接破坏环境而导致对人类、动物或者植物的真实或者潜在的危险。“实验室生物安全”一词用来描述那些用以防止发生病原体或毒素无意中暴露及意外释放的防护原则、技术以及实践，其目的是为了减少或消除实验室工作人员和其他人员受到感染的可能性，以及外环境受到潜在的有害病原体或毒素的危害。“实验室生物安全”主要由实验室操作技术、安全设备和实验室设计三个要素结合提供。

1. 实验室操作技术

生物安全最重要的因素是严格遵守标准的微生物操作规程。从事感染性微生物或可能有感染性材料的工作人员必须意识到潜在的危害，并接受培训和熟练掌握安全处理这些材料的操作技术。

每个实验室应该制定一系列规章制度或一套生物安全操作手册，明确可能遇到的危害，并说明减小或消除这些危害的操作程序。应使工作人员了解危害性，要求他们阅读和遵守有关操作程序。要由在实验室技术、安全操作程序和处理感染性病原体危害方面受过训练的专家全面指导实验室工作。

当标准的实验室操作不能充分控制与特殊病原体或实验室安全程度相关的危害时，额外的措施是必需的，其必须与病原体或实验室安全相关的危害是相应的，必须以相应原实验室设施的设计和工程特点、安全设备和管理措施来补充实验工作人员安全操作和技术等方面的不足。

2. 安全设备（一级屏障）

安全设备包括系列生物安全柜、各种密闭容器和其他为了消除或减少暴露于有害生物材料所设计的工程控制设施。生物安全柜是主要的设备，用于许多微生物学操作过程中产生的感染性溅出物或气溶胶的防护。其他一些一级屏障还有安全离心机罩以及为防止在离心过程中气溶胶被释放出而设计的密闭容器。

安全设备还包括个人保护用品，例如手套、外套、长服、鞋套、长筒靴、口罩、面罩、安全眼镜或防风镜等。使用生物安全柜和其他设备进行病原体、动物或其他材料的研究时，通常与个人防护设备联合使用。

3. 实验室建筑设计（二级屏障）

为了对在同一建筑物中实验室内外工作的工作人员提供保护屏障，以及防止工作无关人员或动物接触从实验室偶然释放出来的感染性微生物，建筑物的设计是非常重要的，

设计性能包括：保证定向气流的特殊通风系统；从排出的气体中消除或除去致病因子的空气处理系统；可控制的通过区；以气锁作为实验室的入口或单独建筑或利用缓冲间把实验室分开等。

工作流程 4 实验实训的基本要求

要通过一个实训而真正达到职业素质和技能的全面训练，必须做好“六个环节”的工作，即实训预习、准备、操作、纪录、收尾工作和实训报告的撰写。

1. 对实训预习的要求

- ① 通过预习明确实训的目的，并能在实训过程中随时检查自己有无达到目的。
- ② 通过预习基本熟悉原理，并尽量用最简洁的语言进行总结，提炼出关键词。
- ③ 能逐步学会列出所需要的实训器材的种类、规格和数量清单，以及写出所需配制的溶液种类、要求、数量和配制方法。
- ④ 能逐步根据实训的步骤及所需花费的时间，预先合理安排自己的实训过程，充分利用实训过程中的空余时间，争取能既快又好地完成整个实训项目的训练。
- ⑤ 在预习要求的基础上，认真撰写实训预习报告。

实训预习报告

系（部）_____ 专业班级_____ 学生姓名_____ 学号_____ 课程名称_____

实训地点_____ 日期_____ 指导教师_____ 同组人姓名_____

实训项目名称	
实训相关实验	
实验基本原理	
实训所需仪器和试剂	
实训方法和步骤	
实训数据记录	
预习问题	
教师审查意见	签名： 年 月 日
基本要求	按要求复习相关基础理论、原理、特性等，了解本次实训内容与要求，并作出书面预习报告，经教师审查同意方可进行本次实训。

2. 对实训器材准备和溶液配制的要求

实训器材的准备和溶液配制是实训操作中的一个重要和最基本的训练项目，准备实训器材及配制溶液时需要考虑以下方面。

- ① 认真检查实训所需仪器设备和器材，参照仪器使用说明，测试是否运行正常，若不正常，需及时向实训指导老师或实验室管理老师报告，以便及时维修。
- ② 实训所需试剂是属于定性还是定量要求的，例如，如果只是定性要求，若需配制一个 7% 醋酸脱色液作电泳胶脱色用，那么只要准备相应配制体积的量筒即可，而没有必要用容量瓶去定容。而如果需要配制标准溶液用于定量，药品为固体试剂时，需用分析天平称量，使准确度达到 0.0001g，液体试剂需用吸量管或取液器准确量取，溶解后必须用容量瓶精确定容。
- ③ 了解各种试剂的稳定性和挥发性等理化性质，例如染色剂等一些在光照下不稳定的

6 单元一 生物技术实训基础

物质，必须准备棕色试剂瓶盛放，而如果试剂具有挥发性，则必须选择密塞容器。

④ 通过教师讲解和任务分配后，对于承担班级配液任务的同学，必须根据整个班级分组的情况来准备器材和所需配制溶液的数量。

⑤ 配制溶液时，根据溶液的浓度和体积认真计算，写出配方及配制方法，并交同组同学核对无误，再由教师最后复核并签字认可后，方可严格按照配制方法进行配液操作。配制完毕后应按要求贴上标签，其他同学需根据讲解要求修订预习报告中的溶液配制方法。

⑥ 对于玻璃仪器等实训器材，在实训前一定要清洗干净，洁净的玻璃仪器是实训结果正确的重要保证，各种玻璃仪器的清洗应严格按照正确的洗涤方法。

3. 对实训记录的要求

实训记录是对实训过程的一个真实记载，记载了实训进行的日期、实训过程中的各种数据（包括药品的称量值、添加的试剂、温度和溶液的 pH 值、反应的时间、样品编号与上样顺序等）、所观察到的现象等。实训记录是我们分析实训结果、发现问题和查找错误以及最后撰写实训报告的重要依据，可使整个实训过程具有可追溯性。因此在撰写实训记录时应做到以下几点。

① 持认真、严肃、实事求是的科学态度，严禁弄虚作假，编造和篡改数据。

② 记录数据时不能用铅笔或容易掉色的笔，若需绘图，则应用 2H 或 H 的硬质铅笔。

③ 使用专用的实训记录本，不能随便记录在便条等容易丢失的地方。

④ 记录数据时，发现明显笔误或读数有误，确实需要修改数据时，不能将原来的数据涂黑抹掉，只能用笔轻轻画一横杠，再将正确的数据写在旁边，使原来的数据仍应清晰可辨。

⑤ 实训记录应清晰明了，并尽量以表格化形式记录。

4. 对实训操作过程的要求

① 在实训操作过程中，应严格遵守操作要求，对注意事项要加以重视，尤其是操作不当可能会造成人身伤害的操作，严防安全事故的发生。

② 在操作过程中，合理安排好时间，在规定时间内完成实训。还应注意观察现象，随时做好实训记录，多动脑筋，尤其当出现异常现象时，首先应分析原因。如果实训操作出现失误，则应仔细分析并找到原因后再重做。

③ 对实训安排和实训方法应多提合理化建议，在完成规定的实训项目任务后，可以自行设计其他的实训方法，在征得教师同意后，实际加以验证。

5. 对实训收尾工作的要求

在实训完成，实训结果经教师核查通过后，可进行收尾工作，对收尾工作的基本要求如下。

① 将废液和废渣按规定的要求处理，按要求清洗所用过的各种实训器材，清查各种公用器材和设备的配件是否缺损和遗失，若一切正常，则归还公用的器材和设备，自用器材放置到自己的贮物柜中。

② 清洁实训台面。

③ 若为值日生，还应清洁公用实训台面和清洁地面；检查所有实训台面是否清洁，对未清洁干净的实训台面，予以记录和清洁；清洗和检查各种公用器材和设备是否清洁和有无破损或缺失，检查包装情况。

④ 值日生离开实训室前应检查门、窗、水、电情况。

6. 对实验实训报告的要求

实验实训报告是对整个实训项目从目的、原理到实训过程和结果的一个总结和分析，因此，实验实训报告应由实验目的、实验原理、所用器材和试剂、实验步骤、实验结果、总结和讨论等几部分构成（见实训报告格式）。写好实训报告，将对整个实训项目能有一个更深地认识和一个质的提高，对于如何将理论知识应用于实际也有一个实例，并能训练总结、归纳、书面表达的能力。因此，实验实训报告要求每一个同学认真、独立地完成。

① 实验目的、基本原理部分的撰写以最简单的语言表示；列出所用的主要器材和试剂，写试剂时要避免使用未被普通接受的商品名或俗名；操作步骤最好以流程图的形式表示。

② 每个实验实训都应写出实验结果，总结和讨论。对于实验结果，应根据实训记录，进行整理，最好以表格或条理清晰的方式表示；总结和讨论是实训报告的重点撰写部分，讨论时不应是实验结果的重述或简单说这次实验实训成功与失败，而应以实验实训中观察的现象和结果做出合理的、逻辑性的推论，首先针对自己的实训结果，做出判断，如结果是否正常，图谱是否清晰，分离效果是否良好等（有图谱的要将图谱贴附或画在实训报告上），然后对实训结果进行分析，如果结果不好，则分析可能存在哪些原因（可以通过查阅参考书或参考文献来进行分析）。

实训报告格式：

系（部）	专业班级	学生姓名	学号	成绩
实训地点	实训日期	指导教师	课程名称	

一、实训目的和要求

二、实验原理

三、主要仪器设备、试剂或材料

四、实验方法与步骤

五、实验数据记录、处理及结果分析

六、讨论、心得

指导老师评语：

签名 _____ 年 月 日

工作任务 2 认识和熟悉常见实训操作室

生物技术实训室包括生物技术实训准备室，无菌操作室，基因扩增（聚合酶链反应PCR）检验室，动物细胞培养室，植物组织培养室，发酵实训室，电泳室以及产品检测实训室。对生物技术专业的学生来说，不仅要认识常见生物技术实训室的种类，还要熟悉各类实训室的功能和布局，熟悉常用的仪器设备，熟练掌握各种仪器的基本操作至关重要，只有这样才能保证各种实训项目的顺利完成。

8 单元一 生物技术实训基础

工作任务书：见表 1-2。

表 1-2 认识实训操作室工作任务书

完成项目	达到目标
工作准备	查找相关材料了解生物技术实训室所应具备的结构及布局； 查找相关材料了解生物技术实训室所应具有的主要仪器设备； 填写相关实训预习报告
工作过程	参观整个生物技术实训室，了解其结构布局； 了解生物技术实训室主要仪器的型号及性能； 掌握和熟悉实训室的注意事项； 仔细观察和记录实验结果
工作结束	整理实验室，做好相关设备维护
报告撰写	正确如实地记录实验过程操作，完成实验报告

工作流程简图：

认识生物技术实训准备室→认识无菌操作室→认识基因扩增（PCR）检验实训室→认识动物细胞培养实训室→认识发酵实训室→认识电泳室→认识中草药提取物实训室→认识产品检测实训室。

工作流程 1 认识实训准备室

实训准备室主要用于存放常用药品和相关仪器设备，主要用于教师准备实验和做预实验，包括实验器皿的清洗、包装、消毒、药品的称量和试剂的配制等。准备室可以是一个大房间，也可分为几个功能间。

准备室应有下列一些设备。

- (1) 储品柜或储架，用于存放实验常用药品、试剂、器皿、耗材和相关仪器设备等。
 - (2) 洗刷、消毒相关设备：
 - ① 大、小水槽：用于器皿的清洗。
 - ② 消毒设备：高压锅，蒸汽灭菌锅，干燥消毒箱等。
 - ③ 消毒后的物品和器械保藏柜。
 - ④ 烘箱：用于玻璃器皿的干燥。
 - ⑤ 蒸馏水处理器（包括双蒸，三重蒸馏水）：制备双蒸、三重蒸馏水之用，常用的是石英玻璃双重蒸馏水处理器或超纯水装置。
 - ⑥ 酸缸：用于盛装清洁液，多为陶瓷的或耐酸塑料的。
 - ⑦ 超声波清洗仪：用于难清洗的不锈钢类或玻璃类器皿。
- (3) 称量和配制液体设备：主要包括电子天平（分析天平和常规电子天平）、pH 计（酸度计）、磁力搅拌器（配置溶液时搅拌溶液）、微量移液器、微波炉、包装台、电炉等。

实验准备室应保持整洁，各种物品分类按序摆放。准备室仅供教师准备实验所用，未经教师允许，学生不得入内。

工作流程 2 认识无菌操作室

无菌操作室又名洁净实验室，在生物学方面是进行无菌操作的，常用于动、植物组织细胞及微生物的接种、分离等工作。

无菌室应设置在实验室的最里面，防止空气流动引起污染。无菌室包括操作室、缓冲间和更衣室（见图 1-1）。无菌操作室不宜过大或过小，无菌室

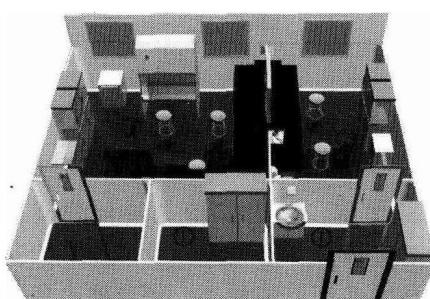


图 1-1 无菌洁净室示意图

①更衣间；②缓冲间；③无菌操作间

内的地面、墙壁必须平整，不易藏污纳垢，便于清洗。无菌室外要设一个缓冲间，缓冲间主要目的是保护操作室的无菌环境，缓冲间的门和无菌室的门不要朝向同一方向，以免气流带进杂菌，门多用推拉式，便于快速启闭。无菌操作室内密闭不透风，温、湿度和二氧化碳浓度较高，易滋生细菌，而且损害工作人员的身体健康，应安装过滤空气的恒温恒湿调节器。

无菌操作间还可以放置超净工作台、恒温培养箱、显微镜和离心机等实验仪器，使实验在相对无菌条件下完成，而不必携出室外。

工作流程3 基因扩增（PCR）检验实训室

PCR即聚合酶链反应，是分子生物学研究和实验的常规方法，也是生物学、医学临床等领域广泛应用的实验技术。PCR技术在临床、血液筛查上，可用于临床早期诊断、药物疗效观察、预后判断、流行病学调查、血液筛查、输血安全性判断等方面。另外在动、植物检验检疫方面和食品、饲料卫生、化妆品工业的检验方面都得到了广泛的应用。

基因扩增检验实训室（见图1-2）主要由四个单独的工作区域组成，即试剂贮存和准备区、标本制备区、扩增反应混合物配制和扩增区、扩增产物分析区。各区域应完全独立分隔，不应有任何的空气直通。进入各工作区域必须严格按照单一方向进行，即试剂贮存和准备区→标本制备区→扩增反应混合物配制和扩增区→扩增产物分析区。

基因扩增检验实训室各区域仪器设备配备通常如下。

① 试剂贮存和准备区 2~8℃和-15℃冰箱；混匀器；微量加样器（覆盖1~1000μl）；移动紫外灯（近工作台面）；消耗品：一次性手套、一次性吸水纸、耐高压处理的离心管和加样器吸头（带滤心）；专用工作服和工作鞋等。

② 标本制备区 2~8℃冰箱，-20℃或-80℃冰箱；高速台式冷冻离心机；混匀器；水浴箱或加热模块；微量加样器（覆盖1~1000μl）；可移动紫外灯（近工作台面）；超净工作台，消耗品：一次性手套、一次性吸水纸、耐高压处理的离心管和加样器吸头（带滤心）；专用工作服和工作鞋等。

③ 扩增反应混合物配制和扩增区 仪器主要配置有冰箱、高速离心机、超净工作台、PCR仪、微量加样器（覆盖1~1000μl）；可移动紫外灯（近工作台面）；消耗品：一次性手套、一次性吸水纸、耐高压处理的离心管和加样器吸头（带滤心）；专用工作服和工作鞋等。

④ 扩增产物分析区 主要用于PCR产物的凝胶电泳分析，产物拍照及重组克隆的制备等。基本仪器设备如下：微量加样器（覆盖1~200μl）；超净工作台；毛细管电泳仪；可移动紫外灯（近工作台面）；消耗品：一次性手套、一次性吸水纸、耐高压处理的离心管和加样器吸头（带滤心）；专用工作服和工作鞋等。

工作流程4 动物细胞培养实训室

动物细胞培养整个操作过程是一种无菌操作技术，要求工作环境和条件必须保证无微生物污染和不受其他有害因素的影响。细胞培养室主要用于进行无菌操作，各种组织取材与接种材料的制备、培养液的过滤除菌以及对培养物的生长情况观察等。其设计原则是防止微生

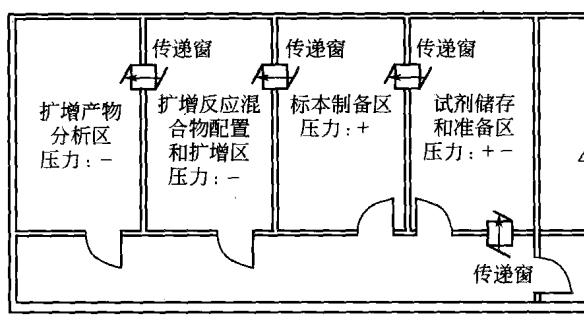


图1-2 基因扩增检验实训室示意图

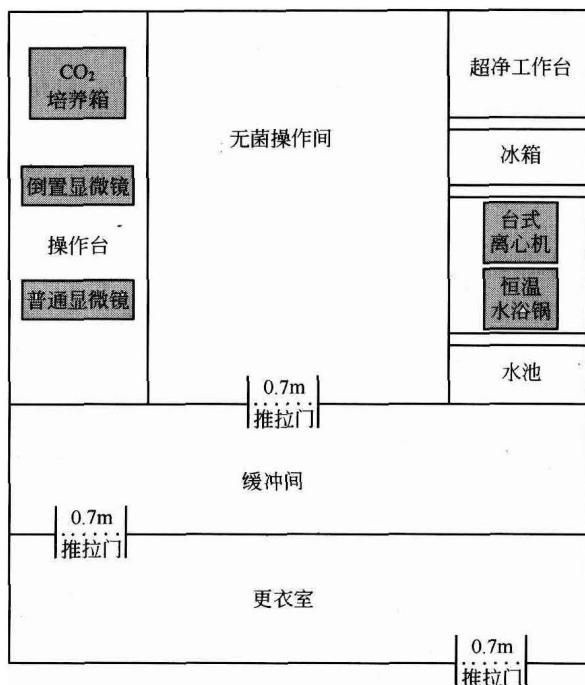


图 1-3 动物细胞培养实验室示意

物污染和有害因素影响，要求工作环境清洁，空气清新，干燥和无烟尘，并具有适宜的光线，培养室应尽量设法避免外界的污染。细胞培养室一般可分为培养室和准备室。

1. 培养室

培养室又称无菌操作室，其功能可用于无菌操作、各种组织取材与接种材料的制备、培养液的过滤除菌以及对培养物的生长情况进行观察等。培养室只限于细胞培养及其他无菌操作的区域，最好能与外界隔离，不能穿行或受其他干扰。理想的培养室（无菌操作室，见图 1-3）应划为三部分：更衣间、缓冲间和无菌操作间。

① **更衣室**：供更换衣服、鞋子及穿戴帽子和口罩。

② **缓冲间**位于更衣间与操作间之间，是消毒的培养室和外面的非消毒房

间的缓冲地带，是为了减少将外界污染源带入培养室。可放置电冰箱、冷藏器及消毒好的无菌物品普通培养箱、离心机、水浴锅、定时钟、普通天平及日常分析处理物液氮罐等。

③ **无菌操作间**。专用于无菌操作、细胞培养。其大小要适当，且其顶部不宜过高（不超过 2.5m）以保证紫外线的有效灭菌效果；墙壁光滑无死角以便清洁和消毒。用于动物细胞培养的无菌室和培养细菌的无菌室区别在于洁净度不一样，前者要求洁净度更高，所用的仪器设备有一定的差别。细胞培养的操作间内一般应放置如下一些设备：超净工作台/生物安全柜、二氧化碳培养箱、倒置显微镜、低速离心机（用于收集细胞）、水浴锅、4℃冰箱（放置血清和培养用液）等。

2. 细胞培养准备室

细胞培养准备室用于培养器皿的清洗、包装、培养物质的准备和消毒以及供应物品的保藏等。准备室可以是一个大房间也可分为几个功能间：清洗、包装、消毒间和配液间等。

工作流程 5 发酵实训室

生物发酵实验室主要用于各种有益微生物的发酵培养，包括基础研究和中试研究两部分。一般由物料间、配料间、消毒间、无菌室、小量培养间、发酵培养室、检验室等几部分组成。里面的主要仪器设备如下。

① **物料、配料间**：主要用于物料的贮存和培养基的制备。应配置秤、物料架、搅拌器、超低温冰箱、冰箱等。

② **消毒间**：主要用于微生物发酵培养所用器皿和培养基的消毒、灭菌。配备的设备有高压灭菌锅、烘箱、排风灭火设备、细菌过滤设备、干热消毒柜、电炉等。

③ **无菌室**：主要用于微生物的接种操作，所以又叫接种室。室内应配有超净工作台、紫外灯、显微镜、紫外灭菌箱、漩涡振荡器（用于打散孢子）、操作平台（放三角瓶等）。

④ 小量培养间：主要用于微生物菌种的小量培养和扩大培养，主要设备有摇床、恒温恒湿机组、培养箱等。

⑤ 发酵罐培养室：离心机、搅拌器、自动罐、各种规格的小试发酵罐（15L 和 50L）、中试发酵线（100L 种子罐、1000L 种子罐、5000L 发酵罐、2000L 配料罐、200L 补料罐、4000L 储罐、100L 消泡液罐、200L 酸罐、200L 碱罐）等。

工作流程 6 电泳室

电泳室主要用于生物大分子（如核酸、蛋白质）的分析、检测或制备。根据用途一般可分为几个区域：检测核酸的琼脂糖凝胶电泳区、检测蛋白质的聚丙烯酰胺凝胶电泳区、电泳结果的观察检测区等。

琼脂糖凝胶电泳区：该区域主要用于核酸样品的电泳分析，需要的设备有电泳仪、水平电泳槽、制胶槽、微波炉或电炉、微量移液器、紫外透射仪、转移槽、核酸杂交仪等。

【温馨提示】 因为用于核酸染色的溴化乙锭是一种诱变剂，具有潜在的致癌性，因此有的设备、器皿应专门放置在一定区域，防止 EB 的污染。

聚丙烯酰胺凝胶电泳区：该区域主要用于蛋白质样品电泳分析，常用的设备有电泳仪、垂直板电泳槽、制胶装置、电转移装置、二维电泳装置、水平脱色摇床等。

电泳结果的分析检测区：该区域主要用于对凝胶电泳结果进行分析，主要的仪器设备有紫外透射仪、照相装置（或凝胶成像分析系统）。

【温馨提示】 电泳实验区注意事项：

- ① 本实验区为污染区，核酸电泳中的溴化乙锭（EB）是强的诱变剂，操作时请戴手套，并注意不要戴手套触摸非实验区内物品。聚丙烯酰胺凝胶电泳中的丙烯酰胺（Acr）和亚甲基双丙烯酰胺（简称 Bis）均为神经毒剂，对皮肤有刺激作用，操作时应戴手套和口罩，纯化应在通风橱内进行。
- ② 溴化乙锭、丙烯酰胺和亚甲基双丙烯酰胺应专门存放。
- ③ 制作完凝胶后，请及时清理模具内残胶。模具及梳子请放回盘内，勿随意散放在实验区内。
- ④ 各个实验区域实验设备不能随意调动，使用过的东西放回原位。
- ⑤ 实验后请清理实验桌面，带走自己的实验物品。

工作流程 7 生物产品检测实训室

生物产品检测实验室主要从事生物药品、生物制品的品质和安全性检测。包括各种药品、疫苗、血液制品、食品、食品添加剂、饮料、化妆品、卫生用品等的质量检测。

生物产品检测实验室根据生产的产品品种、检测项目的多少，仪器设备的配置可繁、可简。生物产品检验可分为两大项，一是检测产品的品质项目；二是检测产品的安全性项目。

1. 品质项目检测

品质检测的项目主要包括水分、含盐量、含糖量、蛋白含量、脂肪含量、纤维含量、维生素含量、酸度等检测，通常可采用化学法分析。

一般需要配置的仪器设备有烘箱、水浴、电炉、搅拌器、粉碎机、pH 计等。此外，也