



全国高等农业院校教材

全国高等农业院校教学指导委员会审定

# 动物生物化学实验指导

DONGWU SHENGWU HUAXUE SHIYAN ZHIDAO

第二版

周顺伍 主编

动物类专业用



中国农业出版社

全国高等农业院校教材

全国高等农业院校教学指导委员会审定

# 动物生物化学实验指导

第二版

周顺伍 主编

动物类专业用



中国农业出版社

**图书在版编目 (CIP) 数据**

动物生物化学实验指导/周顺伍主编. —2版. —北京: 中国农业出版社, 2001.12

全国高等农业院校教材

ISBN 7-109-07292-4

I. 动… II. 周… III. 动物-生物化学-实验-高等学校-教材 IV. Q5-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2001) 第 078797 号

**中国农业出版社出版**

(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)

(邮政编码 100026)

出版人: 沈镇昭

责任编辑 王玉英 林维芳

---

中国农业出版社印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行

1986 年 6 月第 1 版 2002 年 2 月第 2 版

2002 年 2 月北京第 2 版第 1 次印刷

---

开本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 13.75

字数: 311 千字

定价: 18.30 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

## 第二版前言

全国高等农业院校统编教材“动物生物化学实验指导”，自1984年编写至今已10余年，曾10余次印刷，是高等农业院校的基本实验教材。随着学科的发展，原书内容已十分陈旧，需要进行修改。

鉴于当时的情况，原书中的内容，除部分是与课程内容相关的验证性实验外，主要是动物血液生化成分的测定方法，但生化实验方法与技术操作训练的内容较少。

而今，血液生化成分手工测定的方法，正在被“自动生化分析仪”所取代，有些测定方法已被淘汰。更重要的是随着蛋白质结构与功能以及核酸（DNA、RNA）体外操作研究的发展，促进了生物化学实验方法与技术的全面发展，尤其是20世纪70年代初DNA重组技术的创立及相关新技术的不断涌现，已形成新的分子生物学技术，从而更加丰富和发展了生物化学实验方法与技术，使之成为当今生物科学研究的重要手段；成为生物科学工作者必备的知识。

鉴于此，这次修改原书，除保留部分效果明显的验证性实验外，重点增加了生物化学实验方法与技术操作训练的内容。力求通过实验使学生认识和掌握基础的实验方法与技术，提高动手的能力。

生物化学实验方法与技术的内容范围很广，其中包括：生物大分子物质的粗分离技术、离心技术、层析技术、电泳技术、光谱光度技术、电泳技术、同位素技术、微量减压技术（Warburg呼吸计）、免疫化学技术、DNA重组及相关的技术等。还有20世纪末发展起来，将在本世纪发挥重要作用的生物芯片（Biochip）技术。

由于本书属大学基础教材，不可能、也不必要介绍全部的生物化学实验技术与方法，我们仅选择了具有代表性、最基础、内容十分成熟、取材容易的一些实验。目的只在于通过实验使学生懂得这些技术的基本原理，掌握基本操作，达到提高动手能力的目的。

各院校的情况差别很大，书中的实验可根据情况选做，条件不成熟的可逐步创造条件开展。部分实验可供硕士研究生训练之用。

本书虽冠以“动物生物化学实验指导”，仅指实验材料多取自动物，若改用其他材料，许多技术与方法是通用的。

本书第一版是由几个院校的同行共同编著，这次修改不可能邀请更多的同行参加。为集思广益，吸取精华，修编前我们曾征求了许多同行的意见，得到了大家热情的支持：东北农业大学李庆章、中国人民解放军军需大学王映强、上海交通大学农学院杨丽娥、宁夏农业大学张慧茹、浙江大学童富淡、贵州大学范佳佑等同行，寄来了他们编著正式出版的生化实验教材或推荐了好的实验。许多同行还提出了许多建议与意见，在此表示最衷心的感谢。

感谢!

本书参阅、引用了许多有关的专著及文献材料、图等，由于篇幅有限不能逐一列出，在此致谢!

实验教材贵在重复性好，书中实验曾经编者多年实践，但仍会有不妥和错误之处，请读者及时指出。由于我们的水平有限，书中不足和错误之处，请同行给予指教!

编者  
2001年春节

# 第一版前言

这本实验教材是受农业部的委托编写的。1982年在北京召开了动物生物化学教学大纲审订会。本教材基本上是按该次会议制订的大纲编写的。

实验主要是按技术（如光度法、电泳法、层析法等）分类编排的。在每类实验之前对该种技术的原理做了简要的说明，以便使学生对当前常用的生化技术有较全面的了解。但在实际教学中，不一定按这个次序进行。

全书共编写了36个实验，按现在的学时一般是不能全做的。多编一些是为了各兄弟院校根据自己的情况进行选择，也为了其他畜牧、兽医工作者参考。此外，在附录中列举了我们觉得必须提供的实验室常识和常用数据。

在编写过程中，新疆八一农学院郑世昌参加了初稿的全部审查工作；江苏农学院严锦文参加了部分实验的编写工作，特此致谢。

由于编者水平所限，而且为了尽快出版供大家使用，所以匆促编成，因而必然会有许多缺点和错误，渴望读者指正。实验课是培养学生操作技术、科学态度和独立工作能力的重要环节。在编写中我们虽然注意到了这一点，但做得很不够，望大家提出宝贵意见，以便再版时修订。

编者

1984年6月于北京

第一版编著者

主 编	齐顺章	北京农业大学
编 者	周顺伍	北京农业大学
	刘昌沛	江苏农学院
	喻梅辉	新疆八一农学院
	鲁安泰	西北农学院

# 目 录

第二版前言

第一版前言

I、离心技术 .....	1
实验 1 实验基本知识与操作 .....	6
实验 2 血液样品的处理及组织匀浆的制备 .....	18
实验 3 唾液淀粉酶活性的观察 .....	22
实验 4 琥珀酸脱氢酶的作用及其竞争性抑制的观察 .....	26
实验 5 牛乳中蛋白质的提取与鉴定 .....	27
实验 6 肝糖原的提取与鉴定 .....	29
实验 7 脂肪酸的 $\beta$ -氧化——酮体测定法 .....	30
实验 8 动物组织中核酸的提取与鉴定 .....	33
实验 9 维生素 C 的提取与含量测定 .....	36
实验 10 维生素 B <sub>1</sub> 的提取与含量测定 .....	38
II、光谱光度技术 .....	40
实验 11 血液葡萄糖的测定 .....	46
实验 12 血清总蛋白、清蛋白及球蛋白的测定 .....	49
实验 13 血液非蛋白氮 (NPN) 的测定 .....	52
实验 14 蛋白质的含量测定 .....	54
实验 15 核酸 (DNA、RNA) 总磷量测定 .....	57
实验 16 紫外吸收光谱法测定核酸类物质 .....	59
实验 17 化学法测定 DNA 的含量 .....	61
实验 18 碱性磷酸酶的活性及比活性测定 .....	62
实验 19 碱性磷酸酶 $K_m$ 值的测定 .....	67
III、生物大分子物质制备的基本技术 .....	70
实验 20 血浆 IgG 的分离制备 .....	75
实验 21 细胞色素 C 的制备 .....	77
实验 22 碱性磷酸酶的分离制备 .....	80
实验 23 猪胰蛋白酶的制备 .....	82
实验 24 鸡卵类黏蛋白的制备 .....	84
实验 25 动物组织中 DNA 的制备 .....	85
实验 26 动物肝脏中总 RNA 的制备 .....	87
IV、层析技术 .....	90



## 目 录

实验 27	纸层析法鉴定酶促转氨基作用	92
实验 28	脂质的提取和薄层层析	96
实验 29	Edman 法分析蛋白质及多肽的 N-末端氨基酸	98
实验 30	DNS-Cl 法分析蛋白质及多肽的 N-末端氨基酸	102
实验 31	凝胶柱层析法	107
实验 32	盐析产品 (IgG) 的凝胶层析法脱盐	112
实验 33	DEAE-离子交换剂纯化血浆 IgG	113
实验 34	树脂离子交换剂纯化细胞色素 C	116
实验 35	CM-纤维素离子交换剂纯化猪胰蛋白酶	118
实验 36	亲和层析剂纯化猪胰蛋白酶	120
<b>V、电泳技术</b>		125
实验 37	血清蛋白质醋酸纤维薄膜电泳法	131
实验 38	聚丙烯酰胺凝胶柱状电泳法	135
实验 39	SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法测定蛋白质的分子量	138
实验 40	聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳法测定蛋白质的分子量	144
实验 41	凝胶等电聚焦电泳法测定蛋白质等电点	148
实验 42	琼脂糖凝胶电泳法分离核酸	151
实验 43	琼脂糖凝胶电泳法分离乳酸脱氢酶同工酶	155
实验 44	免疫电泳法	157
实验 45	轮状病毒 RNA 的制备及其基因结构的电泳分析	159
<b>VI、免疫化学技术</b>		163
实验 46	抗血清的制备	163
实验 47	抗血清效价及纯度测定法	165
实验 48	酶联免疫吸附测定法 (ELISA)	168
实验 49	Western 印迹法鉴定牛血清 IgG	172
<b>VII、DNA 重组技术</b>		175
实验 50	质粒 DNA 的提取与鉴定	179
实验 51	EcoRI 酶切质粒 pBR322 的反应及其鉴定	183
实验 52	用质粒 DNA 转化 <i>E. coli</i> 及转化结果的检测	186
<b>附录</b>		190
一、量器的校正		190
二、常用数据表		191
三、常用缓冲溶液的配制方法		192
四、层析技术常用数据		197
五、硫酸铵饱和度常用表		201
六、核苷、核苷酸及其衍生物的一些物理常数		202
<b>参考文献</b>		210

# I、离心技术

根据物质的质量、沉降系数及浮力因素等不同，应用高速旋转产生强大的离心力，使物质分离、浓缩、提纯的方法称为离心（centrifugation）技术。

## 一、离心机

产生高速旋转的机械称为离心机。离心机基本由金属的转头和驱动、调控装置构成。现在的离心机规格、型式多种多样。按转速可分为：400r/min 范围内的低速离心机；20 000r/min范围的高速离心机；50 000~100 000r/min 的超速离心机。

离心机的转头是放置离心样品，旋转产生离心力的部分。结构上分为角（定角）转头（图 I - 1）和荡平（摆角）转头（图 I - 2）。低速转头由铝合金制成，高速及超速转头由钛合金制成。角转头是由一块完整的金属构成，其上带有 6~8 个装样品离心管的孔穴。孔穴与旋转轴之间固定构成  $20^{\circ}\sim 45^{\circ}$  的角。荡平转头是在转头上悬吊着 4~6 个自由活动装离心管用的吊桶，静止时吊桶垂直悬挂着，当转头旋转达 200~800r/min 时，吊桶即荡平成  $90^{\circ}$  水平位置。低速离心机的转头固定在离心机驱动轴上，吊桶可以取下。其他离心机的转头可以从驱动轴上取下来。1 台高速及超速机配有多个转头，它们都有规定的转速，使用时应特别注意，使用一定年限后应作检查。角转头都配有转头盖，离心时应把盖盖上。

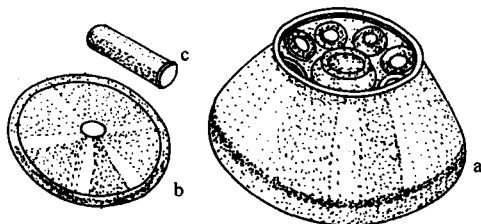


图 I - 1 角转头

a. 定角转头 b. 盖 c. 离心管

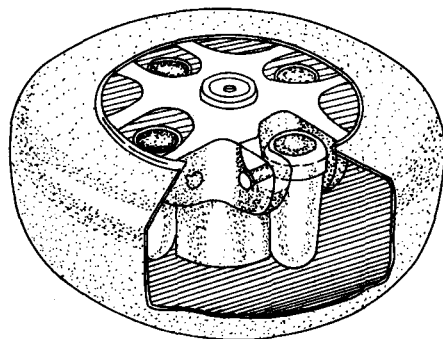


图 I - 2 荡平式转头

离心机的驱动装置是离心机产生旋转的部分，不同的离心机结构各不相同。

低速离心机主要是电动机及调速装置，离心轴与电机直接相连。离心轴与转头相连，并有一个金属外罩，以防离心时发生意外。

高速和超速机的驱动装置由大功率电机及精密齿轮箱等与转头轴组成驱动轴。驱动轴结构精巧具有一定的耐弯曲弹性，可以适应因转头转动时不平衡引起的震动，不至于损伤。转头放在驱动轴上，并有锁相连，可以自由取出或放上。驱动轴与转头周围用钢板围成一个转头室。装置中除速度控制系统外，还有一个超速保护系统，以防止转速超过转头最大规定转速，如出现这种情况时，有可能引起转头撕裂和爆炸。为安全起见，转头室是用能承受此种爆炸的铠甲钢板制成。在转头底部还装有反光或非反光明暗相间的环，此环上反光条纹可反射驱动装置上光源的光，并使之落在光电池上。这样当转头旋转时，反光条纹与非反光条纹交替通过光束并切割光束，光电池输出的电流即可形成脉冲信号。如果转头产生的脉冲频率超过规定频率，离心机就会自动停止。

高速和超速机还装有温度调控系统。即可以监视转头室的温度，在转头下面还装有红外线感受器可直接监视转头温度，以保证离心过程中保持温度在  $0\sim 4^{\circ}\text{C}$  的范围。

超速机由于超过  $40\ 000\text{r}/\text{min}$  时，空气摩擦生热作用明显增大。为消除这种热源，所以转头室需要抽成真空。因此装有真空泵系统。当抽成真空后，温度控制也会明显改善。

综上所述，高速和超速离心机的结构是十分复杂而又精密，所以在使用时一定要严格按照操作步骤进行。最好在专业人员指导下使用超速离心机。

离心操作中最重要的是平衡，即离心时对应的两个离心管一定要十分平衡。荡平式转头中有些吊桶需要与样品离心管同时两两平衡，有些则不用，应按要求严格平衡。

## 二、离心力

离心机高速旋转时产生一个向外的离心力  $F$ ，其  $F$  的大小取决于旋转的角速度（用弧度  $\omega$  表示）；和旋转的半径  $r$ （单位  $\text{cm}$ ）：

$$F = \omega^2 \cdot r$$

离心力的单位常以地心引力的倍数  $g$  或（数字  $\times g$ ）来表示，称为相对离心力（Relative centrifugal force, RCF）：

$$\text{RCF} = \omega^2 r / g$$

$g$  为重力加速度  $9.8\text{m}/\text{S}^2$  或  $980\text{cm}/\text{S}^2$ 。离心机旋转的速度为  $V$ ，单位是每秒的转数，若习惯使用每分钟转数（ $\text{r}/\text{min}$ ）表示，需乘以  $1/60$ 。由转速  $n$ （ $\text{r}/\text{min}$ ）可转变为弧度：

$$\omega = 2\pi n \cdot \frac{1}{60}$$

因此：

$$RCF = \frac{\left(\frac{2\pi n}{60}\right)^2 \cdot r}{980} = (1.119 \times 10^{-5}) n^2 \cdot r$$

可见旋转速度与离心力有密切的关系。一般情况下，低速离心时常用转速  $n$  来表示；高速和超速时则用  $g$ （数字  $\times g$ ）来表示离心力。

在计算离心管中旋转的颗粒所受到的相对离心力时，颗粒位置到旋转中心轴的距离  $r$  是十分重要的。由于转头的形状各不相同，离心管中从管顶至管底各点到旋转中心轴的距离（ $r$ ）是不同的。例如角转头中（图 I-3），转头最小  $r$  是 4.8cm，最大是 8.0cm，若转速为 12 000r/min 则：

$$\text{管顶 } RCF = (1.119 \times 10^{-5})(12\ 000)^2 \times 4.8 = 7\ 734 \times g$$

$$\text{管底 } RCF = (1.119 \times 10^{-5})(12\ 000)^2 \times 8.0 = 12\ 891 \times g$$

如上可见，管顶部和底部的离心力差别近一倍。一般可用两者的平均值来表示。由此可见， $r$  的数值十分重要。图 I-4 为荡平式转头剖面及旋转中心至各点的距离。

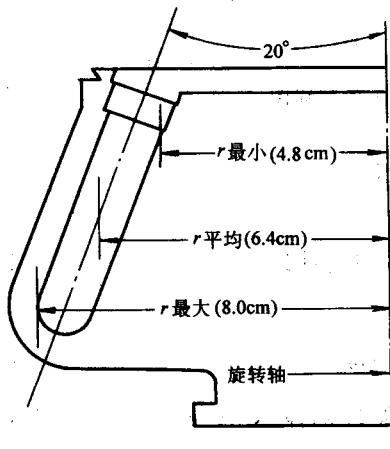


图 I-3 角式转头的横剖面图，表明从旋转中心到离心管顶部、中部和底部的距离

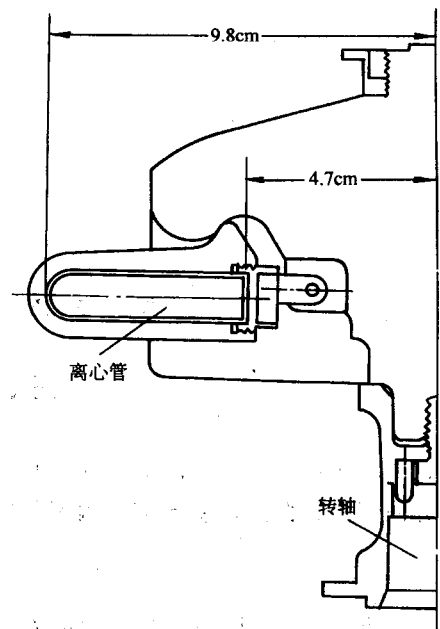


图 I-4 荡平式转头剖面及旋转中心至各点的距离

在通常情况下，并不需要对离心力作具体计算，可以通过离心机转速与离心力的列线计算图求得，如图 I-5 所示：若已知半径（ $r$ ）和转速（ $n$ ），用直尺将半径数值和转速数值连成一条直线，直线与相对离心力（ $RCF$ ）相交的位置便是相对离心力的数值。

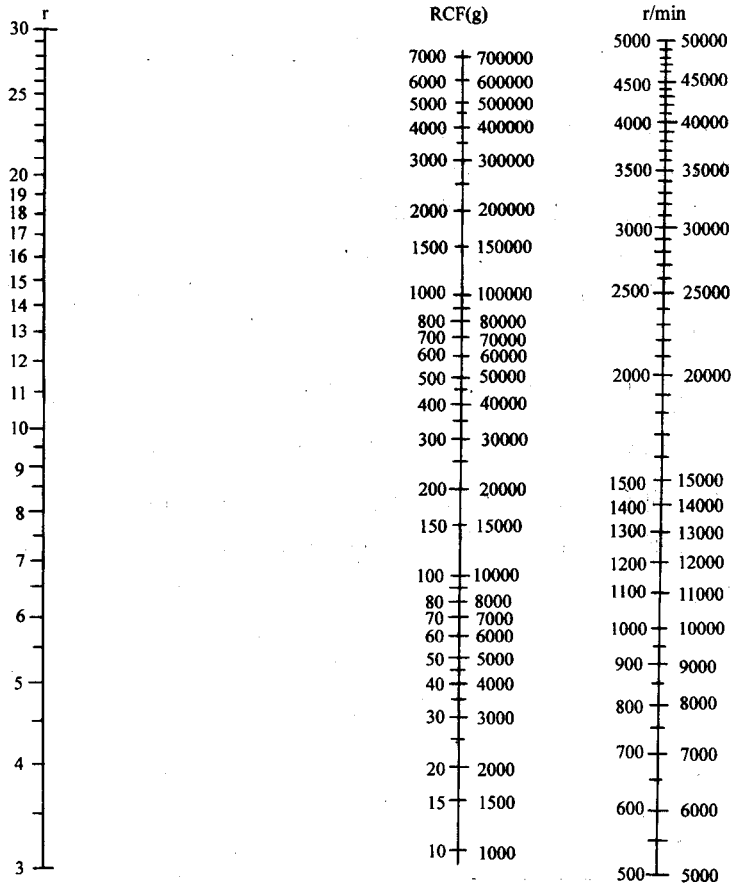


图 I - 5 离心机转数与离心力的列线图

### 三、沉降系数

在离心机中围绕轴旋转的分子或颗粒受到离心力的作用，将以某一速度  $V$ ，向离心管底方向沉降，此速度受到多种因素的影响：

$$V = \frac{dr}{dt} = \phi \frac{(\rho_p - \rho_m)}{f} \cdot \omega^2 r$$

$r$  是转轴到沉降颗粒或分子的距离 (cm)， $\phi$  是颗粒的体积 ( $\text{cm}^3$ )， $\rho_p$  是颗粒的密度 ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )， $\rho_m$  是介质的密度 ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )， $f$  是摩擦系数 ( $\text{g}/\text{s}$ )， $v$  是颗粒的径向沉降速度 ( $\text{cm}/\text{s}$ )。每个颗粒在离心时的沉降速度，由于在离心力作用下， $r$  不断在变化，受到作用力的时间也在变化，所以用它们的微积分 ( $dr/dt$ ) 来表示。

Svedberg 提出以沉降系数来表述颗粒的沉降速度。沉降系数即指沉降颗粒在单位离心力作用下的沉降速度；单位是秒，用 svedberg 表示，简称  $S$ 。

$$S = \frac{\text{沉降速度}}{\text{单位离心力}} = \frac{dr/dt}{\omega^2 \cdot r}$$

因为许多生物大分子都具有比  $10^{-13}\text{s}$  更大的沉降系数，所以规定这个数量 ( $10^{-13}\text{s}$ )

为一个 svedberg 单位即 1S。

下面举例说明最大离心力、最大相对离心力和沉降系数之间的关系。

某离心机最大转速 ( $v$ ) 为 30 000r/min, 离心管最大离心半径 ( $r$ ) 为 10cm (0.1m)。离心管中样品在离心力作用下以 0.03cm/min 速率沉降, 分别计算最大离心力, 最大相对离心力及样品的沉降系数。

$$\text{最大离心力} = \omega^2 r = (2\pi v)^2 \times 0.1 = \left(2 \times 3.14 \times \frac{30\,000}{60}\right)^2 \times 0.1 = 985\,960 \text{m} \cdot \text{s}^{-2}$$

$$\text{最大相对离心力} = \omega^2 r / g = 985\,960 \text{m} \cdot \text{s}^{-2} / 9.8 \text{m} \cdot \text{s}^{-2} = 100\,505 \times g$$

$$\text{沉降系数} = \frac{dr}{dt} \cdot \frac{1}{\omega^2 r} = \frac{3 \times 10^{-2}}{60 \text{S}} \times \frac{1}{100\,505 \text{m} \cdot \text{s}^{-2}} = 4.97 \times 10^{-11} \text{S}$$

各种生物大分子的沉降系数是各不相同的, 因此采用离心的方法可以达到分别沉降分离的目的。

在生物大分子分离制备中, 由于一时尚无法了解它们的分子量、分子结构等。因此常用沉降系数 S 这个单位作初步描述, 并加以区别。例如, 大肠杆菌的核蛋白体是 70S, 对整个结构尚不清楚, 只知道是由两个亚基组成, 它们超离心的沉降系数分别为 30S 和 50S。对一些化学结构和功能不完全清楚的 RNA 和蛋白质也称为若干 RNA 和若干 S 蛋白质。

## 四、离心方法

根据实验的目的和分离的对象来选定离心方法。常采用的方法有:

**1. 差速离心法** 是指低速和高速离心交替进行, 以不同的离心力使具有不同质量的物质分离的方法。它适用于颗粒沉降系数 (S) 差别较大 ( $\Delta s > 10$  倍) 的混合样品分离。例如, 实验中的沉淀即是差速离心的一种, 只用一种离心力即将沉淀物沉淀下来。若混合物中颗粒间沉降系数差异小, 此法难以达到分离。

**2. 密度梯度法** 此法用来分离沉降系数 S 很接近物质。如前所述颗粒的沉降除与自身分子大小、形态、密度有关外, 还受介质的密度、摩擦系数等的影响很大。密度梯度法是在介质中加入第 3 种溶剂成分, 它含有两种不同的密度, 其中一种溶质的密度大于沉降颗粒, 另一种的密度小于沉降颗粒, 当离心后沉降颗粒则会停留在两种密度溶剂的界面上。为了适合于沉降系数很接近的多种物质的分离, 可将加入的溶剂密度制成连续增高的梯度系统, 当离心后各种不同沉降颗粒物质即可按其各自的密度平衡在相应的密度溶剂中, 形成一个区带。所以此方法又称区带离心。离心结束后, 分别收集各个区带, 便可获得不同的沉降组分。样品组分颗粒在密度梯度的分离中完全由密度决定, 与离心时间无关。增加离心转速, 并不减少时间, 只会改变区带相对位置。

为保证离心过程中最大限度地保持生物大分子物质的生物活性, 选用的密度溶剂均是不会引起大分子物质凝集、失活、变性等的物质。常用的有蔗糖、甘油和氯化铯、氯化钾等盐类。蔗糖最为常用, 它易溶于水, 对蛋白质和核酸具有化学惰性。梯度范围为 5%~20% 或 10%~60%。制备梯度溶液可用梯度自动混合器或人工操作。

**3. 等密梯度法** 是密度梯度法中的一种, 主要利用氯化铯 (CsCl) 能在离心力作用

下自动形成密度梯度，并在一定时间内保持梯度稳定的特性，作为密度溶剂。被分离各组分，经足够时间离心后，能分别达到相应于自身浮力密度的平衡位置，而得到分离。此法的优点是分辨力高，当混合物中两组分间密度差大于 $0.005\text{g}/\text{cm}^3$ 时即可分离。缺点是平衡时间长，通常要十几到几十个小时，CsCl也十分昂贵。

综上所述，差速离心是一种动力学方法，只要选择适合的离心力即可达到目的。等密度梯度法则利用沉降颗粒的浮力密度差的静力学方法，关键是CsCl密度范围的选择。密度梯度法综合了以上两法的特点，关键是制备好密度梯度溶液。使用蔗糖制备的密度梯度经济实惠又便于普及。

## 实验1 实验基本知识与操作

### 一、量器的认识和使用

生化实验中所使用的玻璃器皿，分为容器和量器两类，如烧杯、试管等为容器，量筒、容量瓶、吸管及移液器等为量器，其中容量瓶、吸管及移液器等为准确量器。为保证生化实验的准确性，必须学会正确使用这些量器。

#### (一) 容量瓶

凡要求准确(0.01)配制一定浓度的溶液时必须使用容量瓶。

容量瓶的容量有大有小，均在瓶上标出(如50ml、500ml等)。瓶颈上有一刻度线，表示当液体加到此刻度时就相当于瓶上所标容量。瓶上并标有温度，通常为 $20^\circ\text{C}$ ，表示瓶上所标容量是在 $20^\circ\text{C}$ 时的容量。室温不在 $20^\circ\text{C}$ 时，容量将会有所增减。

配制溶液时，先将溶质在烧杯中用少量溶剂溶解，再把溶液沿玻璃棒引入容量瓶；用少量溶剂冲液烧杯也倒入容量瓶，最后再添溶剂到刻度线。加溶剂时在接近刻度线前，应改用滴管吸取溶剂滴加，以免超过刻度线。装透明溶液时应使液体凹面下线与瓶上刻度线重叠；非透明溶液则应使液体凹面上线与刻度线重叠。

混匀时，一手握瓶颈并按住瓶塞；一手托瓶底，反复颠倒，摇动数次。

为了保证容量瓶的准确度，容量瓶中所装溶液温度应在 $20^\circ\text{C}$ 左右，不可过高或过低，切不可直接加热；用后只能以水冲洗或用铬酸洗液浸泡，切不可放入毛刷直接刷洗；洗净后倒置放干而不能烘干；容量瓶与其瓶塞是成套固定的，不可任意更换，以免不严而漏出液体；当配制蛋白质溶液时，先在烧杯内溶解后再沿瓶壁缓缓加入，在加到刻度后再混匀，以免产生大量气泡影响观察刻度。

#### (二) 吸量管

是精密的卸量器。实验室常用的分3种(图1-1)。

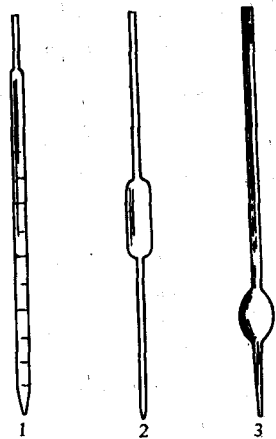


图1-1 各类吸管

1. 刻度吸管 2. 移液管 3. 奥氏管

1. 刻度吸管 这类吸管的管壁上刻印有多个刻度。刻度分为刻到尖端的及刻度不到尖端的；刻度读数有从上而下及从下而上的，用前必须分清楚。

用刻度吸管量取液体时，若使用刻度不到尖端的，只要小心将液体放至下端最后刻度处即可。若使用刻度到尖端的吸管则要注意使用规则。北京等地生产的吸管规定：1ml（包括1ml）以上的刻度管，在放出液体后，尖端遗留的液体不应吹出，只要使管头紧靠容器内壁转动几秒钟即可；1ml以下（不包括1ml）的刻度管则必须把尖端遗留的液体吹入容器内。这类管上一般都印有“吹”字。

若遇不明是否该吹的吸管，可作校正后（其校正法见附录一）再行使用，以免产生错误。

2. 移液管 此类管中部有一圆柱状空泡，只有一个刻度。由于卸出量已经固定，所以准确性比刻度吸管大。使用时，将所量取的液体慢慢放出，尖端所余少量液体不应吹出，只需在最后将管尖触及容器内壁转动几秒钟即可。这类管主要作量卸液体之用。

3. 奥氏（Ostwald）吸管 这是一类特殊吸管。管下端有一卵形空泡，上端有一容量刻度。量取液体时，当所量取的液体自行流出后，必须将遗留在管尖内的少量液体吹入容器内。该管的特点是每单位容量所占管壁的面积最小，而且管内无凸凹处阻碍液体的流出，因此精确度较高。生物化学实验中常用它吸取血液、组织液和组织匀浆等黏度较大的样品。

### （三）吸量管的使用方法

（1）一般使用吸管是用拇指和中指握着管身，刻度数字对着自己，并使管与地面垂直；以食指堵塞吸管上端开口，用以控制液体的放出速度。

（2）吸取液体时，应用橡皮球（洗耳球）吸取，不应用嘴吸。特别是浓酸、浓碱及有毒物质，严禁用嘴吸。吸取液体的量应超过最高刻度稍许。

（3）当吸管从所吸取的液体中取出，均须用滤纸片将管外壁抹干净（特别是吸取血液等黏性液体时更需要如此）以免影响取量。

（4）吸管用滤纸抹净后，将液体放至起始刻度，弃去多余液体，然后再放至所需刻度。读取刻度时，眼睛要与读取的刻度平行。刻度一般为圆圈或弧形，平时只能看到一条线，液体应流至液体的凹面底部正好与该条线重叠。释放液体速度要慢，不可放开食指自由下落，以免液体在管壁内附着过多而造成误差。

（5）为减少误差，要选用恰当的吸管，如量取1.5ml时应选用2ml的刻度吸管，而不可选用5ml或10ml的；以1ml吸管取两次代替2ml也会产生误差。

（6）吸管用毕，应立即用水冲洗，特别吸血液、组织匀浆等含蛋白质溶液的吸管，因蛋白质干固后将堵塞管的头端。水冲后，晾干，再泡入铬酸洗液中1h以上，最后取出洗净烘干。

（7）使用过程中要防止吸管尖端和上口碰破，尖端碰破残缺，则吸量不准；上口破残，则不易控制流量，均不能使用。

### （四）微量移液器（取样器）

随着生物技术的发展，除常规使用的刻度吸管、移液管外，微量移液器已成生物化学实验中的重要工具。这类移液器具有准确、可连续操作、方便的特点。其结构如图1-2。中央的不锈钢杆有弹性，按下去再放开即可吸取溶液，再按即可放出吸取的溶液。此杆移动的长短决定取量的多少，可由移液器上的螺旋来调节，并有读数指示，以控制吸量。因



此, 1支移液器可以有不同的吸量范围, 如  $2\sim 20\mu\text{l}$ ,  $20\sim 200\mu\text{l}$ ,  $30\sim 200\mu\text{l}$  等, 其准确度在  $\pm 0.1\sim \pm 0.16$  ( $200\mu\text{l}$ ), 误差  $\pm 0.8\%\sim \pm 5.0\%$  ( $2\mu\text{l}$ )。移液器尖头上的吸嘴是1次性的, 为塑料制品 (商品均已无菌), 称为 Tips。用前套在移液器头上, 用后只要按动移液器中央杆旁边的另一杆 (较粗), 通过移液器边上的金属杆即可把吸嘴推出, 再换上新的吸嘴即可。这一切可减少手的动作, 为实验提供了方便。

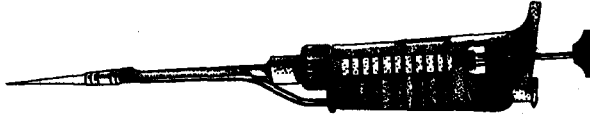


图 1-2 微量移液器

移液器的品种规格很多, 结构基本相同, 在取量上除上述微量外, 也有取量在  $0.2\sim 1.0\text{ml}$ ,  $1.0\sim 5.0\text{ml}$ ,  $1.0\sim 10.0\text{ml}$  的大容量移液器。也有不能调节取量的固定容移液器。移液器的吸嘴也有多种规格, 以适应移液器取量的要求。有的移液器的吸嘴是由 8 个吸嘴并列而成, 取液时可同时取 8 份样品, 移液的范围也可以调节如  $20\sim 200\mu\text{l}$  等。此种吸嘴可提高取液效率。此外, 还有一些专用的移液器, 如专用取蛋白质、核酸等黏稠物质的生物移液器。现在许多实验室移液器正在取代旧有玻璃刻度管和移液管。

微量移液器在使用一定时间后应作校正实验, 以免取样误差过大。

国内还产生一种玻璃制的微量取样器, 结构如图 1-3, 中央是一不锈钢杆, 读数部分为玻璃套管, 头部是不锈钢呈针状, 整个形式呈注射器状。中央钢杆与玻璃套管十分紧密。取量范围有  $2\mu\text{l}$ 、 $5\mu\text{l}$  和  $100\mu\text{l}$  等。 $100\mu\text{l}$  微量取样器, 可取  $20$ 、 $40$ 、 $80\mu\text{l}$  等量, 玻璃管上有读数可供调整。

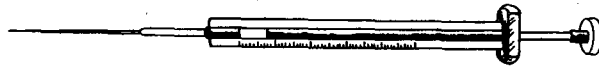


图 1-3 微量取样器

使用微量取样器应注意取样后一定要用清水洗净, 不然样品干固后将使取样器无法使用。

## 二、玻璃仪器的洗涤方法

玻璃仪器是生物化学实验的主要工具。清洁与否, 直接影响实验的结果, 如因为仪器不清洁或污染会引起蛋白质变性或抑制酶的活性, 造成错误的实验结果等。因此玻璃仪器的洗涤清洁工作是非常重要的。在实验的过程中, 每个人都要逐步养成保持所用玻璃仪器清洁、放置整齐的良好习惯。其清洁方法如下:

### (一) 一般玻璃仪器

如试管、烧杯、量筒和锥形瓶等。先用自来水冲去污物, 浸于洗衣粉或肥皂水内用毛刷细心地刷洗内外 (也可用毛刷抹肥皂或洗衣粉刷洗) 务使多生泡沫, 再用自来水冲洗, 察看器壁上是否沾有水珠, 沾有小水珠表示未洗干净, 应重复洗涤, 直至不沾水珠为止。最后用