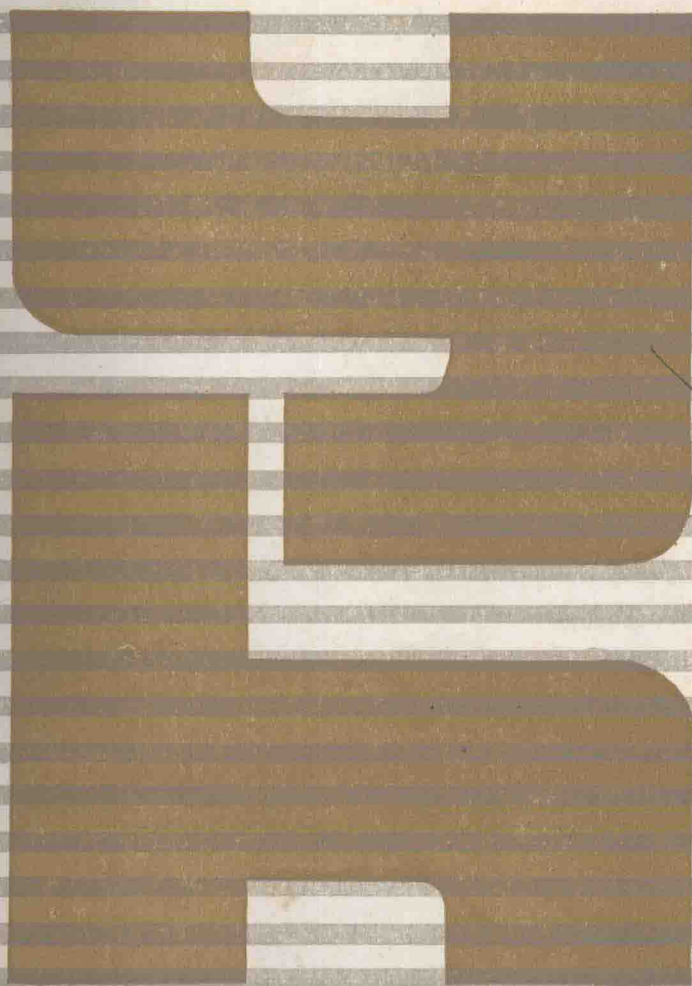


• 医学生物化学丛书 •

高等医药院校教材（供医学、儿科、口腔、卫生、药学、检验等专业用）

医用生物化学实验

YI YONG SHENG WU HUA XUE
SHI YAN • 主编 首都医学院 •



• Y Y S W H X S Y •

高等医药院校教材

(供医学、儿科、口腔、卫生、药学、检验等专业用)

医用生物化学实验

主 编

首都医学院

编 者

江西医学院 苏州医学院 昆明医学院 青岛医学院

首都医学院 蚌埠医学院 镇江医学院

天津科学技术出版社

责任编辑：于素芝

高等医药院校教材

〔供医学、儿科、口腔、卫生、药学、检验等专业用〕

医用生物化学实验

主 编

首都医学院

编 者

江西医学院 苏州医学院 昆明医学院 青岛医学院

首都医学院 蚌埠医学院 镇江医学院

天津科学技术出版社出版、发行

天津市赤峰道130号

天津新华印刷四厂印刷

开本787×1092毫米 1/16 印张14 字数34000

1987年8月第1版

1987年8月第1次印刷

印数：1—25400

书号：14212·253 定价：2.95 元

ISBN 7-5308-0132-5/R·47

前 言

生物化学是一门重要的实验性基础医学学科。生物化学所阐述的是人体物质组成、物质代谢过程、代谢平衡的调控、物质代谢与生理机能之间的关系等内容，是进一步学习其他基础医学课程和临床医学课程的必备基础知识。理论知识来源于实验研究，生物化学实验技术和方法不但为生物化学的迅速发展创立了条件，也为其他基础医学和临床医学的研究和发展奠定了基础。同时也是培养学生基本技术、基本技能、分析问题、解决问题、理论联系实际的一个重要手段。

《医用生物化学实验》是我们根据多年的教学经验，为配合生物化学实验教学编写的。内容安排上以训练学生熟悉和掌握基本实验技术和方法为主，同时也介绍一些临床上比较重要且有代表性的生物化学检测指标的测定方法。以使学生在实验技术和方法，印证有关理论的同时也能对生物化学实验在临床方面的应用有初步的了解。

本书在内容上分三个部分。第一部分为生物化学领域中的基本实验方法和技术的概论，包括：离心分离、电泳、层析、比色分析、放射性同位素实验等，主要叙述原理；第二部分为生物化学基本实验，为便于和理论教学配合，内容按生物化学的理论章节顺序编排，每个实验约需3~4学时，适合于本科生和大专生选用；第三部分为综合性实验，即一个实验内包含多种实验技术，难度较高，适合于开设系列性实验课和研究生公共生物化学实验课选用，每个实验约需7~8学时或更长。附录为生物化学实验中常用的数据和有关资料。

本书适用于医药院校五六年制医学、儿科、口腔、卫生、药学、检验等专业及研究生公共生物化学实验课使用，也可作为生物化学师资培训用的实验课教材。考虑到各院校的具体情况和特点，以及安排方式不尽相同，内容比实际能安排的略多。可按各自的情况选择和组合。

本书计量单位和表达方式全部采用法定计量单位，单位的符号及其定义可参考附录，由于部分量值采用法定计量单位后变动较大，本书仍将旧单位括注在法定量值之后，以资比较。在教学过程中应着重介绍法定计量单位，逐步淘汰旧单位。临床上常用的人体检验参考值取自《实用内科学》1981年版，但量值均已换算为法定单位。

本书在编写过程中得到各院校领导和有关部门的支持；青岛医学院耿芳宋、蚌埠医学院丁昌玉、镇江医学院韦萌青参加部分内容的编写；龚志明同志为倡议和组织本书的编写做了许多工作，编者在此一并致谢。

编 者

1987年3月

目 录

第一部分 生物化学技术概论	(1)
§ 1 实验记录和实验报告的书写	(3)
§ 2 普通实验技术	(4)
§ 3 实验样品的制备	(7)
§ 4 离心分离技术原理	(9)
§ 5 电泳原理	(11)
§ 6 分光分析原理	(14)
§ 7 层析分离原理	(21)
§ 8 放射性同位素技术	(25)
第二部分 生物化学基本实验	(31)
实验 1 氨基酸的薄层层析	(33)
实验 2 离子交换层析分离混合氨基酸	(35)
实验 3 DNS-氨基酸聚酰胺薄膜双向层析	(36)
实验 4 血清总蛋白测定——微量凯氏 (Kjeldahl) 定氮法	(39)
实验 5 蛋白质含量的Folin-酚法测定	(42)
实验 6 血清蛋白质含量的双缩脲法测定	(43)
实验 7 蛋白质含量的紫外测定法	(45)
实验 8 蛋白质的沉淀反应	(47)
实验 9 酪蛋白等电点的测定	(49)
实验 10 凝胶过滤层析分离血红蛋白和DNP-鱼精蛋白	(50)
实验 11 多肽链N-末端氨基酸分析	(51)
实验 12 肝组织核酸的分离和定性测定	(54)
实验 13 酵母核酸的分离和定性测定	(57)
实验 14 核酸的紫外测定及增色效应	(58)
实验 15 温度对唾液淀粉酶活性的影响	(59)
实验 16 温度对脲酶活性的影响	(60)
实验 17 pH 对唾液淀粉酶反应速度的影响	(61)
实验 18 Cl^- 和 Cu^{2+} 对唾液淀粉酶反应速度的影响	(62)
实验 19 蔗糖酶的专一性	(63)
实验 20 淀粉酶的专一性	(64)
实验 21 过氧化氢酶米氏常数的测定	(65)
实验 22 酵母蔗糖酶米氏常数的测定	(69)

实验23	硷性磷酸酶米氏常数的测定	(72)
实验24	5'-腺苷酸酶活性的测定	(75)
实验25	乳酸脱氢酶同工酶的测定	(77)
实验26	琥珀酸脱氢酶的作用及其竞争性抑制	(79)
实验27	胡萝卜素的柱层析分离	(81)
实验28	维生素B ₁ 的荧光测定	(82)
实验29	维生素B ₂ 的荧光测定	(85)
实验30	维生素C的定量测定	(86)
实验31	Folin-吴法测定血糖	(89)
实验32	葡萄糖氧化酶法测定血糖	(91)
实验33	邻甲苯胺法测定血糖	(92)
实验34	Nelson-Somogyi法测定血糖	(93)
实验35	胰岛素和肾上腺素对血糖浓度的影响	(95)
实验36	肝糖原的提取和检定	(96)
实验37	饥饿与饱食对肝糖原含量的影响	(97)
实验38	运动对尿乳酸含量的影响	(98)
实验39	酵母利用无机磷的测定	(99)
实验40	血清脂蛋白琼脂糖电泳	(100)
实验41	血清脂蛋白乙酸纤维素薄膜电泳	(101)
实验42	血清脂类硅胶-G薄层层析	(103)
实验43	血浆胆固醇总量的测定	(104)
实验44	高密度脂蛋白中胆固醇含量的测定	(105)
实验45	血清甘油三酯的测定	(107)
实验46	酮体的生成和利用	(109)
实验47	细胞色素体系的作用及其抑制	(111)
实验48	乳酸脱氢酶及其辅酶的作用	(112)
实验49	酪氨酸酶的催化作用	(113)
实验50	氨基移换作用	(114)
实验51	精氨酸酶的作用	(117)
实验52	L-谷氨酸的氧化脱氨基作用	(118)
实验53	血清蛋白质乙酸纤维素薄膜电泳定量测定	(120)
实验54	血红蛋白乙酸纤维素薄膜电泳	(122)
实验55	血清蛋白质聚丙烯酰胺凝胶电泳	(124)
实验56	King法测定血清谷-丙转氨酶活性	(128)
实验57	改良Mohun法测定血清谷-丙转氨酶活性	(130)
实验58	血中非蛋白氮含量测定	(131)
实验59	二乙酰-脲法测定血清尿素氮含量	(133)
实验60	脲酶-Nessler 试剂法测定血液尿素氮含量	(134)
实验61	火焰光度法测定血清钾钠浓度	(136)

实验62	四苯硼钠比浊法测定血清钾浓度	(137)
实验63	硝酸汞法测定血液氯化物含量	(139)
实验64	EDTA直接滴定法测定血清钙浓度	(140)
实验65	核固红比色法测定血清钙浓度	(142)
实验66	磷钼酸直接比色法测定血清无机磷浓度	(143)
实验67	直接滴定法测定血浆二氧化碳结合力	(144)
实验68	间接滴定法测定血浆(清)二氧化碳结合力	(145)
实验69	尿中酮体、糖、蛋白质含量的定性测定	(146)
实验70	尿淀粉酶指数的测定	(148)
实验71	血清胆红素定性测定——范登白试验	(149)
实验72	血清胆红素定量测定	(151)
第三部分	生物化学综合性实验	(155)
实验73	细胞核分离和核酸、蛋白质含量测定	(157)
实验74	脲酶的凝胶过滤分离	(163)
实验75	硷性磷酸酶的提取及比活性测定	(167)
实验76	牛胰核糖核酸酶的变性和复性	(171)
实验77	血清蛋白质的聚丙烯酰胺凝胶等电聚焦电泳	(173)
实验78	胰蛋白酶的亲和层析法提纯	(176)
实验79	免疫球蛋白的制备及其轻链和重链的分离	(180)
实验80	荷瘤小鼠血清对癌细胞氟标记胸苷掺入核酸的抑制作用	(183)
实验81	抗生素对 ³ H-亮氨酸掺入大肠杆菌蛋白质的抑制作用	(186)
实验82	蛋白质及肽的氨基酸序列测定——PTH分析法	(188)
实验83	核糖核酸的顺序分析	(191)
实验84	限制性核酸内切酶对DNA的酶切作用	(197)
【附录】		(202)
§ 1	实验室规则	(202)
§ 2	实验仪器单	(202)
§ 3	中华人民共和国法定计量单位	(203)
§ 4	用于构成十进倍数和分数单位的词头	(205)
§ 5	待测溶液和选用滤光片的对应关系	(205)
§ 6	化学试剂纯度分级表	(206)
§ 7	实验室常用酸硷的比重和浓度	(206)
§ 8	不同温度时标准缓冲溶液的pH值	(206)
§ 9	缓冲溶液的配制	(207)
§ 10	离心机转速与离心力的换算	(212)
§ 11	元素原子量表	(213)
§ 12	硫酸铵饱和度常用表	(214)

第一部分

生物化学技术概论

本部分的内容为生物化学实验中所涉及的主要技术原理。实验记录和实验报告的书写,介绍如何正确记录实验过程及书写实验报告的一般规则,是训练学生进行正规实验训练的重要内容。普通实验技术包括玻璃仪器的洗涤,洗液的配制,吸量管的使用、混匀的方法以及过滤、离心等一般实验室技术。实验样品的制备着重讨论在生物化学实验中,血液、尿液样品及组织材料的采集和处理,匀浆制备和组织浸出液制备。离心分离技术、电泳原理、分光分析、层析分离和放射性同位素技术,重点讨论这些重要技术的原理,内容则尽可能简洁扼要,作为具体实验内容的参考。

§ 1 实验记录和实验报告的书写

实验是在理论指导下的科学实践,目的在于经过实践,掌握科学观察的基本方法和技能,培养学生的科学思维、分析判断和解决实际问题的能力。也是培养探求真知、尊重科学事实和真理的学风,以及培养科学态度的重要环节。

为此,要求学生在实验前必须预习、理解基本原理和实验基本操作步骤、注意事项,列出所需试剂和仪器,实验中组织安排好时间,严肃认真地进行操作,细致观察变化,如实作好记录、书写实验报告等。

一、实验记录

实验记录要整洁、字迹清楚。

实验中观察到的现象、结果和数据,要及时地直接记在记录本上。原始记录必须准确精练、详尽、清楚。

记录时,应做到如实正确记录实验结果,不可夹杂主观因素。在实验条件下观察到的现象,也应如实仔细地记录下来。在定量实验中观测到的数据,如称量物的重量、滴定管的读数、光电比色计的光密度值等,都应设计一定的表格准确记录。并应根据仪器的精确度准确记录有效数字。要求对实验的每个结果都应正确无遗漏地做好记录。

实验中使用仪器的类型、试剂的规格、化学反应式、分子量、浓度等,都应记录清楚。

实践过程中,应一丝不苟,努力培养严谨的科学作风。

完整的实验记录应包括日期、实验题目、目的、操作、结果。

二、实验报告

实验结束后,应及时整理和总结实验结果及记录,写出实验报告。

实验报告应包括实验名称、实验日期、目的要求、原理、试剂配制、仪器设备、操作方法、实验结果、讨论等项内容。

书写实验报告时,目的和要求、原理以及操作方法部分应作简单扼要的叙述,但对实验条件和操作的关键环节必须写清楚。对于实验结果部分,应根据实验的要求,把所得的实验结果和数据进行整理、归纳、分析和对比,并尽量总结成各种图表,如标准曲线图以及实验

组与对照组实验结果的比较表等。还应针对实验结果进行必要的说明和分析。讨论部分不是对结果的重述，而是对实验方法，实验结果和异常现象进行探讨和评论，以及对于实验设计的认识、体会和建议。

一般实验，要有结论，结论要简单扼要。说明本次实验所获得的结果。

(周秀贞)

§ 2 普通实验技术

一、玻璃仪器的洗涤与清洁

玻璃仪器是生物化学实验中不可缺少的器具，玻璃仪器的清洁与否，直接影响实验结果的准确性。因此，玻璃仪器的清洁工作是很重要的。

(一) 新购玻璃仪器的清洗 新购来的玻璃仪器，其表面附有游离碱质，可先用肥皂水洗刷，再用流水冲洗，浸泡于 1~2% HCl 中过夜，再用流水冲洗，最后用蒸馏水冲洗 2~3 次，在干燥箱中烤干，或晾干备用。

(二) 使用过的玻璃仪器清洗

1. 一般玻璃仪器：如试管、烧杯、锥形瓶等，先用自来水洗刷至无污物，再选用大小合适的毛刷蘸取洗衣粉或肥皂水，将器皿内外壁细心刷洗，再用自来水冲洗干净，洗至容器内壁光洁不挂水珠为止，最后用蒸馏水冲洗 2~3 次，倒置在清洁处晾干，急用时可用干燥箱烤干。

2. 容量仪器：吸量管、滴定管、容量瓶等，使用后应立即浸泡于清水中，勿使沾污物质干涸，并及时用流水冲洗干净，稍干后再用铬酸洗液浸泡数小时，然后用自来水反复冲洗干净，最后用蒸馏水冲洗 2~3 次，晾干备用。

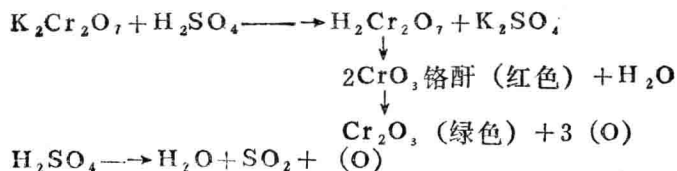
3. 比色杯：用毕立即用自来水反复冲洗干净。如洗不净时，可用盐酸或适当溶剂冲洗，再用自来水冲洗干净。切忌用试管刷或粗糙的布或纸擦洗，以免损坏比色杯透光度，亦应避免用较强的碱液或强氧化剂清洗，洗净后倒置晾干备用。

二、清洗液的原理与配制

(一) 肥皂水、洗衣粉溶液和去污粉：是最常用的洗涤剂，有乳化作用，可除去污垢，能使脂肪、蛋白质及其他粘着性物质溶解或松弛，一般玻璃仪器可直接用肥皂水浸泡或刷洗。

(二) 铬酸洗液

1. 原理：铬酸洗液由重铬酸钾（或重铬酸钠）和浓硫酸配制而成，其清洁效力主要应用其强氧化性和强酸性。



铬酐越多，硫酸越浓，其清洁效力也就越强，当洗液变绿色后则不宜应用。

2. 配制：称取重铬酸钾5g放于250mL烧杯中，加热水5mL搅拌；使其尽量溶解，烧杯下垫一石棉网以防过热，然后慢慢加入工业用浓硫酸100mL，随加随搅拌，尽量避免红色铬酐沉淀析出。此时溶液由红黄色变成黑褐色。冷却后，储于指定容器内盖紧以防吸水。

3. 使用：应用洗液前必须将玻璃仪器用自来水冲洗数次，并将仪器上的水分尽量除去，再放入洗液中浸泡，数小时后取出仪器，用自来水充分冲洗至无洗液为止，冲洗时注意勿将洗液溅出水槽，再用少量蒸馏水冲洗数次，晾干备用。

上述两种洗涤液是最常用的，实验中遇到一些特殊污物，需用针对性强的洗涤液。

(三) 磷酸三钠洗液 为5% $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 水溶液，此液为碱性，可洗涤油污物，但所洗的仪器不适于作磷的测定。

(四) 乙二胺四乙酸二钠洗液 (EDTA洗液) 为5~10%的EDTA洗液，加热煮沸可洗脱玻璃内壁的钙镁盐类白色沉淀和不易溶解的重金属盐类。

(五) 尿素洗液 为45%尿素水溶液，用来洗血污，为蛋白质的最好溶剂。

(六) 草酸洗涤液 可洗脱高锰酸钾的痕迹。用时加少量硫酸效果更好。

(七) 盐酸—酒精洗液 3%盐酸酒精液，可除去玻璃器皿上的染料附着物。

三、吸量管的种类和使用

吸量管是生化实验中常用的仪器，测定的准确度与吸量管的正确使用密切相关。

(一) 分类 生化常用的吸量管有三类：

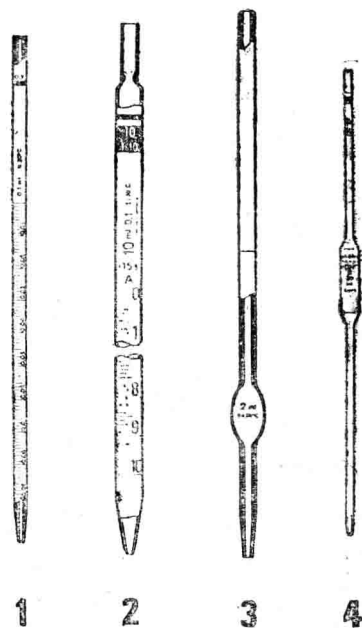
1. 奥氏吸量管：供准确量取0.5 mL、1 mL、2 mL液体时用。每根吸量管上只有一个刻度，放液时必须吹出最后残留在吸量管尖端的液体。

2. 移液管：供准确量取5 mL、10 mL、25 mL等较大体积液体时用。每根吸量管上只有一个刻度，放出液体流完后，将吸量管尖在容器内壁上继续停留15秒，注意不要吹出尖端内的最后部分。

3. 刻度吸量管：供量取10 mL以下的任意体积的液体时用。每根吸量管上都有许多等分刻度，一般刻度包括尖端部分，欲将所量取液体全部放出时，须将残留管尖的液体吹出。

在吸量管的上端常标有吹字，此类吸量管又称全流出式。刻度标记有两种方式：上为零刻度，下无总量刻度的；上为总量刻度，下无零刻度的。若吸量管上端未标有吹字，则残留管尖的液体不必吹出。个别旧制的吸量管其刻度不包括吸量管的最下部分，即吸量管上有零刻度，也有总刻度的，使用时放液至相应的容量刻度线处，不要放液到最低的刻度线以下，此类吸量管也称不完全流出式吸量管。

近来为便于准确快速地选取所需的吸量管，国际标准化组织统一规定：在刻度吸量管的



三类吸量管简图

1、2 刻度吸量管 3 奥氏吸量管
4 移液管

上方印上各种彩色环，其容积标志如下表：

标准容量 (mL)	0.1	0.2	0.25	0.5	1	2	5	10	25	50
色 标	红	黑	白	红	黄	黑	红	桔红	白	黑
环 数	单	单	双	双	单	单	单	单	单	单

不完全流出式在单环或双环上方再加印一条宽1~1.5mm的同颜色彩环以与完全流出式刻度吸量管相区别。

(二) 吸量管的使用

1. 选择：使用前先根据需要进行选择适当的吸量管，刻度吸量管的总容量最好等于或稍大于最大取液量。临用前要看清容量和刻度。

2. 执管：用拇指和中指（辅以无名指），拿住吸量管上部，用食指堵住管上口和控制液流。刻度数字要对向自己。

3. 取液：另一只手捏压橡皮球，将吸量管插入液体内（不得悬空，以免液体吸入球内），用橡皮球将液体吸至最高刻度上端1~2 cm处，然后迅速用食指按紧管上口，使液体不致于从管下口流出。

4. 调准刻度：将吸量管提出液面，吸粘性较大的液体时，先用滤纸擦干管尖外壁。然后用食指控制液流使之缓慢下降至所需刻度（此时液体凹面、视线和刻度应在同一水平面上），立即按紧吸量管上口。

5. 放液：放松食指，让液体自然流入受器内，放液时，管尖最好接触受器内壁，但不要插入受器内原有的液体中，以免污染吸量管和试剂。

6. 洗涤：吸血液、血清等粘稠液体及标本（尿液）的吸量管，使用后要及时用自来水冲洗干净。吸一般试剂的吸量管可不必马上冲洗，实验完毕后再冲洗。冲洗干净后，晾干去水分，再浸泡于铬酸洗液中，数小时后取出，再用流水冲净，最后用蒸馏水冲洗，晾干备用。

四、溶液的混匀

样品与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地互相接触，必须借助于外加的机械作用。混匀时须防止容器内液体溅出或被污染。严禁用手指直接堵塞试管口或锥形瓶口振摇。混匀的方式大致有以下几种，可随使用的器皿和液体容量而选用。

(一) 旋转混匀法 用手持容器，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。旋转试管时最好用手腕旋转。

(二) 指弹混匀法 左手持试管上端，用右手手指轻轻弹动试管下部，使管内溶液作旋涡运动。

(三) 倒转混匀法 适用于有塞量筒和容量瓶、试管内容物的混匀。一般试管内容物的混匀可用聚乙烯等薄膜封口，再用手按住管口倒转混匀。

(四) 吸量管混匀法 用吸量管将溶液反复吸放数次，使溶液充分混匀。

(五) 玻棒搅动法 适用于烧杯内容物的混匀，如固体试剂的溶解和混匀。

(六) 甩动混匀法 右手持试管上部，轻轻甩动振摇，即可混匀。

(七) 电磁搅拌混匀法 在电磁搅拌机上放置烧杯，在烧杯内放入封闭于玻璃或塑料管

中的小铁棒，利用磁力使小铁棒旋转以达到混匀杯中液体的目的。适用于酸碱自动滴定， pH 梯度滴定等。

(八) 振荡器混匀法 利用振荡器使容器中的内容物振荡，达到混匀的目的。

五、过滤

是分离沉淀和滤液的一种方法，可用于收集滤液，收集或洗涤沉淀。生化实验的过滤，操作与化学相同，应注意以下几点：

(一) 制备血滤液等实验过滤时，要用干滤纸而不能用水把滤纸先弄湿，因为湿滤纸会影响血液稀释的体积。

(二) 折叠滤纸的角度应与漏斗相合，使滤纸上缘能与漏斗壁完全吻合，不留缝隙。一般采用平折法（即对折后再对折）。

(三) 向漏斗中加溶液时最好使用玻棒引流，倒入速度不要太快，不得使液面超过滤纸上缘。

(四) 较粗的过滤可用脱脂棉或纱布代替滤纸，有时可用离心沉淀法代替过滤法。

六、离心机的使用方法

欲使沉淀与母液分开，过滤和离心都可达到目的，但当沉淀粘稠，或颗粒太小能过滤纸，总容量太少又需定量测定时，使用离心沉淀法比过滤法要好。

使用离心机前，应先检查离心机转动状态是否平稳，以确定离心机的性能，检查套管与离心管大小是否相配，套管是否铺好软垫（用棉花、或橡皮）。套管底部有无碎玻片或漏孔（碎玻片必须取出，漏孔须修补好）。

检查合格后，将一对离心管放入一对套管中，然后连套管一起分置粗天平两侧，用滴管向较轻的一侧离心管与套管之间加水，直至天平两侧彼此相等为止。将各对已平衡的套管连同内容物放置于离心机内，两个等重的管必须放于对称位置。

放妥后，接通电源开关，逐步扭动转速旋钮，缓慢增加离心机转速，直至所需的转速。达规定时间后，将转速旋钮逐步回零，待离心机停稳后，取出离心管。

(周秀贞)

§ 3 实验样品的制备

在生物化学实验中，无论是分析组织中各种物质的含量，或是探索组织中的物质代谢过程，都需要利用预先处理过的特定生物样品。掌握此种实验样品的正确处理与制备方法是做好生物化学实验的先决条件。

在基础生物化学实验中，最常用的实验样品是人或动物的血、尿和组织等。血样品常采用全血、血浆、血清及无蛋白血滤液。组织样品则常用动物的肝、肾、胰、胃粘膜或肌肉等组织。现将这些样品的制备方法扼要介绍如下：

一、血液样品

收集动物或人的血液时应使用清洁干燥的仪器以防止溶血。

(一) 全血 取出血液后，迅速盛于含有抗凝剂的试管内，同时轻轻混匀，使血液和抗凝剂充分混合，以免血液凝固。取得的全血如不立即进行实验，应储存于冰箱中。

常用的抗凝剂有草酸盐、柠檬酸盐、氟化钠、肝素等，根据实验的要求而定。一般情况下使用价廉的草酸盐。抗凝剂的用量不宜过多，以免影响实验结果。通常每毫升血液加草酸盐1~2mg，柠檬酸钠5mg或氟化钠5~10mg，肝素仅需要0.01~0.2mg。可将抗凝剂配成适当浓度的水溶液，按需要量加到准备盛血的试管中，并涂布于试管壁，横放烘干（肝素不宜超过30℃）备用。

（二）血浆 将上述抗凝之全血在离心机中离心，血细胞下沉，上清液即为血浆。分离血浆时，必须严格防止溶血，除采血时一切用具（注射器、针头、试管等）都需要清洁干燥外，取出之血液也不能剧烈振荡。

（三）血清 收集的血液不加抗凝剂，在室温下约5~20分钟即自行凝固，通常经3小时，血块收缩而分出血清。血块收缩后，应及早分离出血清，以免溶血。若血块粘着容器壁过紧，血清不易分离出来，可用细玻璃棒轻轻剥离。将血液离心，可使血清分离得较快、较多。

（四）无蛋白血滤液 分析血液中某些成分时（如血液中的非蛋白氮、葡萄糖、肌酸等），为了避免蛋白质的干扰，需预先除去血中的蛋白质成分。常用三氯乙酸，钨酸或氢氧化锌等沉淀剂与蛋白质作用，然后用过滤或离心方法制成无蛋白血滤液。

二、尿液样品

一般定性实验可以用随时收集的新鲜尿液。定量测定尿液中各种成分时应收集24小时的尿液，混合后再取样。因为一天之中各次排出尿液的成分随食物、饮水及一昼夜体内生理变化等的影响而有很大的差异。

收集方法，一般在早晨一定时间排出残余尿而弃去，以后每次尿均收集于清洁大玻璃瓶中，到第二天早晨同一时间收集最后一次尿即可。把收集的24小时尿液充分混合后用量筒量准其总体积，然后取样分析。

收集的尿液如不能立即进行实验，则应置于冷处保存。必要时可在收集尿的瓶中预先放入防腐剂，通常每升尿中约加入甲苯10mL或浓盐酸10mL。收集实验动物的尿液时，可将动物置于代谢笼中，按以上方法通过笼下的漏斗收集动物24小时的尿液。

三、组织样品

在生物化学实验中，常常利用离体组织研究各种物质代谢的途径与酶系的作用，也可以从组织中提取各种代谢物质或酶进行研究。

但是生物组织离体过久，其所含物质的含量和生物活性都将发生变化。因此，利用离体组织作为提取材料或代谢研究材料时，应在冰冷条件下迅速取出所需组织，并尽快进行提取或测定。

一般采用断头法（或注射空气于动物心脏）处死动物，放出血液，立即取出实验所需之脏器或组织，去除外层的脂肪及结缔组织后，用冰冷的生理盐水洗去血液，必要时也可用冰冷的生理盐水灌注脏器以洗去血液，再用滤纸吸干。迅速称重后，根据实验的不同要求，用以下不同的方法制成不同的组织样品。

（一）组织糜 将组织用剪刀迅速剪碎，或用绞肉机绞成糜状即可。

（二）组织匀浆 向剪碎的新鲜组织中加入适量冰冷的匀浆制备液，用高速电动匀浆器或玻璃匀浆器制成匀浆。常用的玻璃匀浆器有5mL和10mL两种，由一个磨砂玻璃套管和一个带有磨砂玻璃杵头的杵组成。玻璃杵的外壁必须紧靠玻璃套管的内壁。用时将套管放入冰

浴中，玻璃杵与调速马达连接，待将剪碎的组织悬浮于匀浆制备液中并倾入套管中后，再把玻璃杵插入套管中。开动马达并调节杵的转速，小心地用手扶住套管口部，不断上下移动，直至组织碎块磨成匀浆为止。

常用的匀浆制备液有生理盐水、缓冲液或 0.25mol/L 蔗糖液等，可根据实验的不同要求，加以选择。

(三) 组织浸出液 将上法制成的组织匀浆加以离心，其上清液即为组织浸出液。

(王瑞珍)

§ 4 离心分离技术原理

离心机是利用离心力把溶液中的粒子进行分离的一种仪器。所谓离心力是指物体作圆周运动时形成的一种迫使物体脱离圆周运动中心的力。

离心力的单位为 g ，即重力加速度 (980.6 cm/s^2)，离心力的大小可根据离心时的转速 V (r/min 每分钟转数, revolution per minute) 和物体离旋转轴中心的距离 r (cm) 按下式计算：

$$g = r \times V^2 \times 1.118 \times 10^{-5}$$

或按下式计算所需的转速

$$V = \sqrt{(g \times 89\,445) / r}$$

在离心场中物体所受离心力的大小，与物体离旋转轴中心的距离有关，离轴心越远，所受到的离心力越大，计算时通常采用平均距离。

根据离心机转速的不同常将离心机分为普通离心机（最高转速 $4000r/\text{min}$ ），高速离心机（最高转速 $20\,000r/\text{min}$ ）和超速离心机（最高转速 $60\,000r/\text{min}$ 以上）。超速离心机又可分为分析超速离心机和制备超速离心机两类，前者能精确控制离心力，并且可用照相方法或者电子技术记录沉降粒子在离心过程中的行为。对这些记录进行分析，可以测定粒子的物理性质，如沉降系数、分子量、扩散系数、沉降物质的不均一性等。

制备离心技术包括两种方法：一种是分级离心法，另一种是密度梯度离心法。

一、分级离心法

非均一的粒子悬浮液在离心机中离心时，各种粒子以各自的沉降速度移向离心管底部，逐步在底部形成一层沉淀物质。这层沉淀物质含有各种组分，但是最多的是那些沉降得最快的组分（见图1）。为了分出某一特定组分，需要进行一系列离心。通常先选择一个离心速度和离心时间，进行第一次离心，把大组分不必要的大粒子沉降去掉。这时所需要的组分大部分仍留在上清液内。然后将收集到的上清液用更高的转速离心，把需要的粒子沉积下来。离心时间要选择得当，使大部分不必要的小粒子仍留在上清液中。倾去上清液，再把沉淀悬

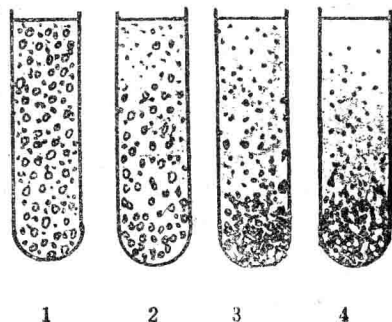


图1 分级离心法