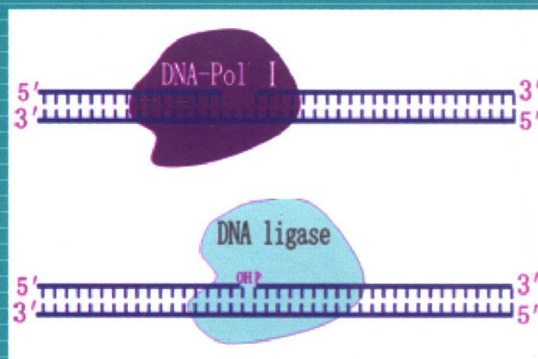
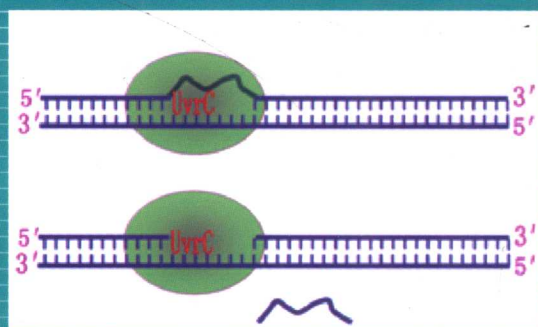
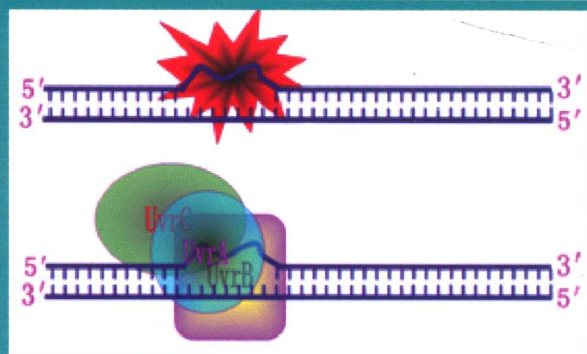


医学生物化学与 分子生物学 实验指导

◎ 主编 陈秀芳



内容简介

全国高等学校“十二五”医学规划教材

(供临床·基础·预防·口腔·药学·护理·检验等专业用)

医学生物化学与分子生物学 实验指导

Yixue Shengwu Huaxue yu Fenzi Shengwuxue

Shiyan Zhidao

主 编 陈秀芳

副主编 毛孙忠

编 者 (以姓氏拼音为序)

陈秀芳 金丽琴 雷康福 李春洋

毛孙忠 沈年汉 王建光 叶 辉

张 伟 张雄飞 郑凯迪



高等教育出版社·北京
HIGHER EDUCATION PRESS BEIJING

内容简介

本教材为医学生物化学与分子生物学实验指导用书。共分三篇。第一篇是生物化学与分子生物学实验基本技术,主要介绍了实验室基本操作,比色分析、层析、电泳、离心、核酸的提取和纯化、聚合酶链反应、核酸分子杂交等常用技术的原理、操作方法、应用等知识。第二篇是生物化学实验,针对蛋白质、氨基酸、酶、物质代谢等内容安排了 15 项实验。第三篇是分子生物学实验,围绕核酸的分离制备、聚合酶链反应、分子杂交等技术编写了 7 项具体实验。同时,配有数字课程资源,供学生拓展学习。是一本系统的、实用性强的实验教材。

本书适用于高等医学院校临床、基础、预防、口腔、药学、护理、检验等专业学生。

图书在版编目 (C I P) 数据

医学生物化学与分子生物学实验指导 / 陈秀芳主编.
— 北京: 高等教育出版社, 2013. 1
供临床、基础、预防、口腔、药学、护理、检验等专
业用
ISBN 978 - 7 - 04 - 036545 - 0

I. ①医… II. ①陈… III. ①医用化学-生物化学-
实验-医学院校-教学参考资料②医药学-分子生物学-
实验-医学院校-教学参考资料 IV. ①Q5-33②Q7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 297278 号

总 策 划 吴雪梅 策划编辑 杨 兵 责任编辑 孙葵葵
封面设计 赵 阳 责任印制 张泽业

出版发行	高等教育出版社	咨询电话	400 - 810 - 0598
社 址	北京市西城区德外大街 4 号	网 址	http://www.hep.edu.cn
邮政编码	100120		http://www.hep.com.cn
印 刷	中国农业出版社印刷厂	网上订购	http://www.landaco.com
开 本	787mm × 1092mm 1/16		http://www.landaco.com.cn
印 张	8.25	版 次	2013 年 1 月第 1 版
字 数	185 千字	印 次	2013 年 1 月第 1 次印刷
购书热线	010 - 58581118	定 价	16.80 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 36545 - 00

▶ 前言

随着生命科学的发展,生物化学与分子生物学的理论和技术已经渗透到生命科学的各个研究领域,成为生命科学各学科之间相互联系的“共同语言”,本课程也成为高等医学院校学生重要的必修课程之一。开设生物化学与分子生物学实验课,不仅可以帮助学生更好地理解本学科的基本理论知识,掌握必要的实验技术技能,而且可以培养学生协作共事的团队精神、严谨务实的科研作风,提高创新能力和分析问题、解决问题的能力,为今后进一步学习和工作打下良好的基础。

本教材分为三篇。第一篇是生物化学与分子生物学实验基本技术,主要介绍了比色分析、层析、电泳、离心、核酸的分离提取和纯化、聚合酶链反应、核酸分子杂交等常用技术的原理、操作方法、应用等知识。第二篇是生物化学实验,针对蛋白质、氨基酸、酶、物质代谢等内容安排了15项实验。第三篇是分子生物学实验,围绕核酸的分离制备、聚合酶链反应、分子杂交等技术编写了7项实验。

本书配有数字课程,可拓展学习内容,是一本系统的、实用性强的实验教材。可供高等医学院校的临床、基础、预防、口腔、药学、护理、检验等专业学生使用。

本书在编写过程中得到了温州医学院领导和高等教育出版社的大力支持,在此一并致以衷心感谢。

由于编者水平有限,难免存在不妥和疏漏之处,恳请同行专家和使用本书的师生批评指正。

金丽琴

2012年9月于温州

数字课程

医学生物化学与 分子生物学实验指导

登录以获取更多学习资源!

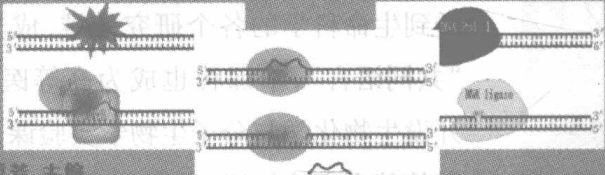
登录方法:

- 1. 访问 <http://res.hep.com.cn/36545>
- 2. 输入数字课程账号 (见封底明码)、密码
- 3. 点击“LOGIN”、“进入 4A”
- 4. 进入学习中心

账号自登录之日起一年内有效, 过期作废。
使用本账号如有任何问题,
请发邮件至: medicine@pub.hep.cn

医学生物化学与 分子生物学 实验指导

盛芳芳 主编



资源说明 | 纸质教材 | 教学资源 | 版权信息 | 联系方式

4a

学习中心

欢迎登录

账号

密码

LOGIN

资源说明

《医学生物化学与分子生物学实验指导》资源网站是一个开放式的网络教学平台, 内容为《医学生物化学与分子生物学实验指导》拓展资源, 包括两部分: ①更多相关实验: 包含 7 项实验, 有助于学生拓展学习, 培养研究和创新能力。②生物化学及分子生物学实验常用参数资料: 为与实验相关的参数, 方便学生在实验过程中查阅。

高等教育出版社版权所有 2012

<http://res.hep.com.cn/36545>

目 录

第一篇 生物化学与分子生物学实验基本技术

第一章 实验室的基本操作	2
第一节 实验室常用仪器的使用	2
第二节 常用实验样品的制备	9
第二章 分光光度技术	12
第一节 分光光度技术的基本原理	12
第二节 分光光度技术的定性和定量分析	13
第三节 722 型可见分光光度计及使用介绍	15
第三章 层析技术	18
第一节 层析原理	18
第二节 层析分类及常用层析技术介绍	19
第四章 电泳技术	29
第一节 电泳原理	29
第二节 影响电泳的因素	30
第三节 电泳分类及常用电泳技术介绍	31
第五章 离心技术	35
第一节 离心原理	35
第二节 离心机构造及分类	36
第三节 制备性超速离心技术介绍	38
第六章 核酸的分离提取和纯化	40
第一节 核酸的分离与纯化	40

第二节 核酸含量测定与纯度鉴定	44
第七章 聚合酶链反应(PCR)技术	46
第一节 PCR 技术的基本原理和特点	46
第二节 PCR 反应体系	47
第三节 几种特殊的 PCR	51
第四节 PCR 技术在医学上的应用	54
第八章 核酸分子杂交技术	56
第一节 核酸分子杂交的基本原理	56
第二节 核酸探针及其标记	56
第三节 常用核酸分子杂交技术	60

第二篇 生物化学实验

第一章 蛋白质和氨基酸	66
实验一 蛋白质浓度测定	66
实验二 血清蛋白醋酸纤维素薄膜电泳及定量测定	69
实验三 血清蛋白聚丙烯酰胺凝胶电泳	70
实验四 氨基酸的薄层层析	73
第二章 酶学	75
实验五 丙二酸对琥珀酸脱氢酶的竞争性抑制	75
实验六 碱性磷酸酶的 K_m 测定及抑制剂类型的判定	76
实验七 血清乳酸脱氢酶同工酶分析	81
第三章 物质代谢	84
实验八 肾上腺素和胰岛素对家兔血糖浓度的影响	84
实验九 血清葡萄糖含量的测定	85
实验十 肝糖原的提取和鉴定	87
实验十一 血清三酰甘油的测定	89
实验十二 血清高密度脂蛋白-胆固醇含量的测定	91
实验十三 酮体代谢的定性观察	92
实验十四 转氨基作用	94
实验十五 血清丙氨酸氨基转移酶活性的测定	96

第三篇 分子生物学实验

实验十六 组织细胞中基因组 DNA 的提取	100
-----------------------------	-----

实验十七 琼脂糖凝胶电泳分离 DNA 片段	101
实验十八 质粒 DNA 的提取	104
实验十九 动物组织细胞总 RNA 的提取和鉴定	107
实验二十 聚合酶链反应(PCR)扩增 β -actin 基因	109
实验二十一 反转录聚合酶链反应(RT-PCR)	111
实验二十二 Southern 印迹杂交	114

附 录

实验室规则及要求	120
参考文献	122

第一篇

生物化学与分子生物学实验 基本技术

第一章

实验室的基本操作

第一节 实验室常用仪器的使用

一、玻璃仪器的使用

1. 玻璃仪器的清洁 玻璃仪器是实验室中最常使用的仪器,具有使用方便、价格低廉、易保管、易清洁等优点。实验中所用的玻璃仪器清洁与否,会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。一般而言,玻璃仪器用肥皂水、洗衣粉或去污粉以毛刷刷洗即可;玻璃仪器洁净的标准则是将仪器中的水倒出去后,玻璃仪器的管壁不挂有水珠。

(1) 未使用的玻璃仪器:先用自来水冲洗表面,然后用毛刷蘸取肥皂水、洗衣粉或去污粉刷洗。再用自来水将洗衣粉或去污粉冲刷干净后,1%~2%盐酸溶液浸泡过夜以除去玻璃表面的碱性物质(一般不少于4h)。自来水冲洗3遍后,再用蒸馏水或去离子水冲洗2~3次即可。

(2) 已使用过的玻璃仪器:先用自来水冲洗,再用毛刷蘸取肥皂水、洗衣粉或去污粉刷洗。用自来水充分冲洗干净后再用蒸馏水或去离子水冲洗2~3次即可。

(3) 石英和玻璃比色皿的清洗:用1%~2%的去污剂溶液浸泡2~3h,然后用自来水冲洗(用棉花球棒刷洗效果会更好),清洗干净的比色皿也应内外壁不挂水珠。不可以用肥皂水或强碱清洗(因其会侵蚀抛光的比色皿)。

(4) 比较脏的仪器或不便刷洗的仪器:可使用铬酸溶液洗涤。使用前应用流水冲洗除去黏附物;如果仪器上有凡士林或其他油污也应去除(先用软纸擦拭,再用有机溶剂、自来水冲洗)。待仪器干燥后,方可放入铬酸溶液中,浸泡过夜后用自来水充分冲洗,再用蒸馏水或去离子水冲洗2~3次即可(注:铬酸溶液可反复使用直至其颜色变绿)。

(5) 需要注意的是:对怀疑含有传染性的样品(如肝炎病人的血清)等,其玻璃容器应先消毒再清洗;对于盛放过剧毒药物或放射性核素等物质的玻璃容器,也应先经过专门处理后再清洗。

2. 清洁玻璃仪器的常用洗液

(1) 肥皂水、去污粉或洗衣粉溶液:是最常用的洗涤剂,一般玻璃仪器均可用其刷洗,其清洁玻璃仪器的主要原理是具有乳化污垢的作用。

(2) 铬酸溶液(重铬酸钾-硫酸溶液):广泛用于玻璃仪器的清洁,其所具有的强氧化性和强酸性可以去除普通清洁剂难以去除的污垢。另外,使用其清洁玻璃仪器时需注意安全,因为铬酸溶液具有很强腐蚀性。

(3) 5% ~ 10% 乙二胺四乙酸二钠(EDTA- Na_2)溶液:用于去除玻璃器皿内壁钙镁盐类的白色沉淀和不易溶解的重金属盐类,其作用机制是EDTA和金属离子的强配位效应。

(4) 10%的尿素溶液:尿素是蛋白质的良好溶剂,此溶液特别适用于洗涤盛放过蛋白质制剂或血样的玻璃仪器。

(5) 乙醇-硝酸混合液:用于清洗附着在玻璃仪器管壁,用一般方法难于去除的有机物,尤其适用于清洁滴定管。

(6) 有机溶剂:如丙酮、乙醚、乙醇等可用于去除油脂、脂溶性染料污痕等,二甲苯可洗脱油漆的污垢。

(7) 草酸盐液:使用时加数滴硫酸酸化,适用于清洁盛放过过锰酸钾溶液的玻璃仪器。

(8) 含氢氧化钾的乙醇溶液和含有高锰酸钾的氢氧化钠溶液:可清除容器内壁污垢,其对玻璃仪器的侵蚀性较强,洗涤时间不宜过长。

3. 玻璃仪器的干燥 在任何情况下都不可以使用擦拭的方法去除已清洁的玻璃仪器内壁的水分而使其干燥,擦拭的方法仅限于仪器外部的清洁。

(1) 一般的玻璃仪器洗净后可倒置架上,让水分蒸发,自然晾干。

(2) 如果实验确实需要,也可将玻璃仪器放置在烘箱或在酒精灯上直接烘烤以使其快速干燥。但应注意的是在酒精灯上直接烘烤时,需不断地移动并旋转且开口向下,以避免受热不均或水蒸气凝成水滴而导致玻璃仪器炸裂。

(3) 定量的吸管、滴定管、量筒、容量瓶等不宜加热干燥,因其容易加热变形致容量不准确;分光光度计使用的比色杯的四壁是用特殊胶水粘合而成,受热后易开裂,故也不宜加热干燥。以上玻璃仪器也可先用乙醇洗涤1、2次,最后吹入干燥空气(可用吹风机)使其快速干燥;也可直接使用水泵抽气法干燥。

二、常用的玻璃仪器及其使用方法

(一) 刻度移液管及其使用

准确的分析方法对于生物化学实验是极为重要的,在各种生物化学分析技术中,首先要熟练掌握的就是准确的移液技术。移液管又称为(刻度)吸管,是用来测量一定容积的液体,并把它从一个器皿转移至另一个器皿中的量器。

1. 移液管的分类

(1) 刻度移液管:刻度移液管是实验室中最常使用的一种玻璃仪器,通常为多刻度移液管,有0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL、5.0 mL、10.0 mL等规格。移液管刻度所标的数字有自上而下和自下而上两种,使用之前应仔细分辨。实验室所用之刻度移液管多属于刻度到尖端的移液管,所以要吹出尖端留存的液体。

(2) 奥氏吸管:在量取黏度较大的液体如血液、血清等时,应当使用奥氏吸管。这种吸管也是单标的,并且在其下端有一个膨大部分。所以液体与吸管表面接触面积较小,当量取血液时,较其他种类吸管准确。奥氏吸管的容量包括遗留在尖端的液体,故在缓缓使液体流出后,再停留数秒钟,吹出最后一滴。在学生实验中常用的有1 mL、2 mL、5 mL等规格。

2. 刻度移液管的使用

(1) 使用移液管前的准备:检查移液管尖端是否完整,如果有破损则不能使用。把移

液管洗净,用滤纸把外壁上的水拭干。移取溶液前再用少量移液液润洗 3 次:吸入少量溶液至移液管中,将移液管慢慢放平,并旋转使移液管内壁全部洗过;然后将管直立,将管中液体放出。如此 3 次操作后即可。

(2) 使用移液管吸取液体:用移液管移取溶液时,一般用右手的中指和拇指拿住管颈刻度线上方,把管尖插入溶液内大约 1 cm 处,不得过深与过浅。用洗耳球吸液体至所需刻度处,立即用右手示指按住管口,提升吸管离开液面,用小片滤纸揩去管外沾附的溶液。略微放松示指,使液面平稳下降,直至溶液的凹面与刻度标线相切(此时溶液凹面、刻度和视线应在一个水平面上),立即用右手示指按紧管口。

量取液体时,应选用取液量最接近的移液管,且应尽量通过一次操作完成。例如:欲移取 1.5 mL 液体,应选用 2.0 mL 的刻度吸管;欲移取 3.5 mL 液体,应选用 5.0 mL 的刻度吸管。另外,对于同一实验中同一种试剂的移取,应尽可能选用同一支移液管。

(3) 使用移液管放出液体:量取所需液体后,垂直取出移液管,插入接收容器中,移液管垂直,管尖靠在接收器内壁,与接收器约 45° 夹角,松开示指,使液体自然流出(一般应吹出尖端残留液体),如图 1-1-1。

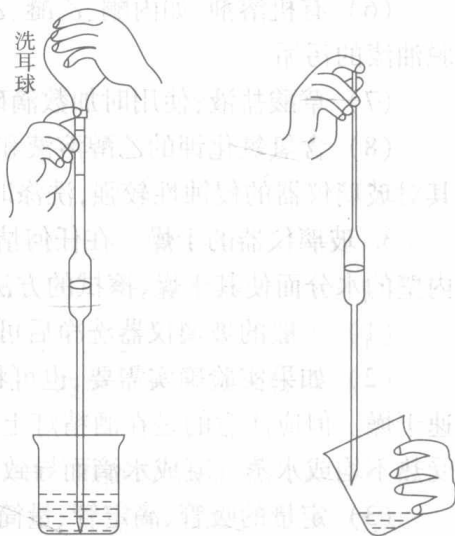


图 1-1-1 移液管的使用

(二) 容量瓶的使用

容量瓶是底平、颈细的梨形瓶且瓶口带有磨口玻璃塞的装量型定量容器,是用来精确地配制一定体积和浓度溶液或稀释溶液的玻璃仪器(只能配制和稀释溶液,保存溶液需移到细口瓶中去)。

1. 容量瓶的分类 容量瓶一般有 10 mL、25 mL、50 mL、100 mL、250 mL、500 mL 和 1 000 mL 等不同规格。容量瓶颈部刻有环形标记线,其规格一般印在瓶身上(20 °C 时液体充满至刻度时的容积)。

2. 容量瓶的使用

(1) 容量瓶使用前应检查其气密性:气密性检查即检查瓶塞是否漏水,其方法是:加水近刻度,盖好瓶塞用左手手指按住,同时用右手五指托住瓶底边缘,将瓶倒立 2 min,如不漏水,将瓶直立,把瓶塞转动 180° 再倒立 2 min,若仍不渗水即可使用(图 1-1-2)。

(2) 容量瓶使用前应充分清洁:先用自来水刷洗,若内壁有油污,则应倒尽残水,加入适量的铬酸溶液,倾斜转动,使溶液充分润洗内壁,再倒回原溶液瓶中,用自来水冲洗干净后再用去离子水润洗 2~3 次备用。

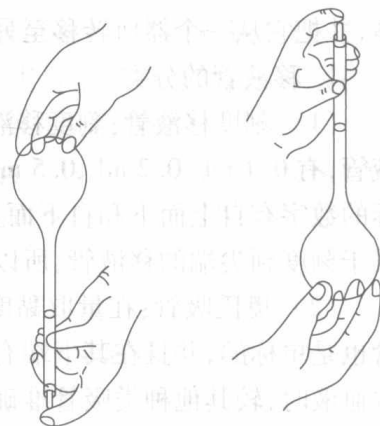


图 1-1-2 容量瓶的气密性检查

(3) 容量瓶的使用

1) 将准确称量好的药品倒入干净的小烧杯中,加入少量溶剂将其完全溶解后再定量

转移至容量瓶中(如使用非水溶剂则小烧杯及容量瓶都应事先用该溶剂润洗 2~3 次)。

2) 定量转移时,右手持玻璃棒悬空放入容量瓶内,玻璃棒下端靠在瓶颈内壁(但不能与瓶口接触),左手拿烧杯,烧杯嘴紧靠玻璃棒,使溶液沿玻璃棒沿壁而下流入瓶内(图 1-1-3)。烧杯中溶液流完后,将烧杯嘴沿玻璃棒上提,同时使烧杯直立,将玻璃棒取出放入烧杯内,用少量溶剂冲洗玻璃棒和烧杯内壁,将冲溶液也同样转移到容量瓶中,如此重复操作 3 次以上。

3) 然后补充溶剂,当容量瓶内溶液体积至 $3/4$ 左右时,可初步摇荡混匀,再继续加溶剂至近标线,最后改用滴管逐滴加入,直到溶液的弯月面恰好与标线相切。若为热溶液应冷至室温后,再加溶剂至标线。

4) 盖上瓶塞,将容量瓶倒置,待气泡上升至底部;再倒转过来,使气泡上升到顶部,如此反复 10 次以上,使溶液混匀。

(三) 滴定管的使用

滴定管是容量分析中最基本的量器,供容量分析滴定之用,多用来测定滴定时所消耗溶液的体积。

1. 滴定管的分类及规格 滴定管有带玻璃塞及橡皮管的两种类型,前者用以量酸,称为酸式滴定管;后者用以量碱,称为碱式滴定管(图 1-1-4)。滴定管是有刻度的微量滴定管,有 1.0 mL、2.0 mL、5.0 mL、10 mL 等不同规格。还有 25 mL、50 mL、100 mL 等规格的常量滴定管。

2. 滴定管的使用

(1) 滴定管在使用前应检查是否清洁干燥,是否漏水,玻璃塞是否滑润。如有漏水或转动不灵,应拆下活塞重新涂抹凡士林。涂抹前要将玻璃塞擦干,用手指沾少量凡士林在活塞两头各抹一薄层,将活塞插入槽内,然后向同一方向转动活塞,直到从外面看时,全部透明为止。凡士林涂好后,在活塞的小头的槽上套一橡胶圈,以防活塞滑脱。另外,滴定管必须保持垂直地夹在夹子上。

(2) 打开玻璃塞将液体放出以排出气泡,然后调整液面至零刻度线或零刻度以下附近处,记下读数(初读数)。滴定前应将滴定管尖端残液用小片滤纸擦除。

(3) 滴定时,应使锥形瓶口接近滴定管尖端;为使滴定液与溶液充分混匀在滴定过程中应不断摇动锥形瓶(图 1-1-5)。

(4) 滴定速度以每秒 3~4 滴为宜,不宜过快;滴定将近终点时更要慢,要确保每一滴都充分混合均匀。

(5) 滴定到终点后,关闭活塞,等候 1~2 min 后方可读数(终读数)。

(6) 滴定完毕后,剩余液不能倒回原瓶。

(7) 滴定管使用后,应立即用少量蒸馏水清洗滴定管 2~3 次,装满蒸馏水至“0”以上,用试管罩盖好。

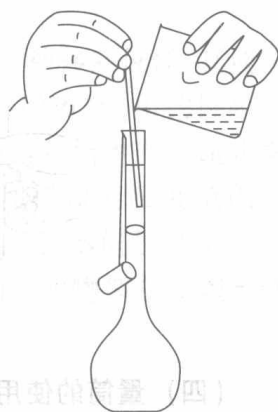


图 1-1-3 往容量瓶加溶液的方法

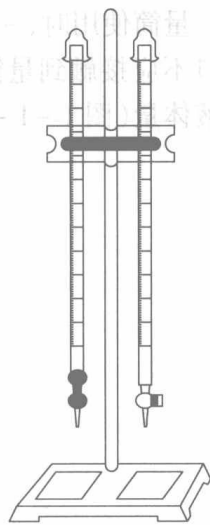


图 1-1-4 常见的酸碱滴定管

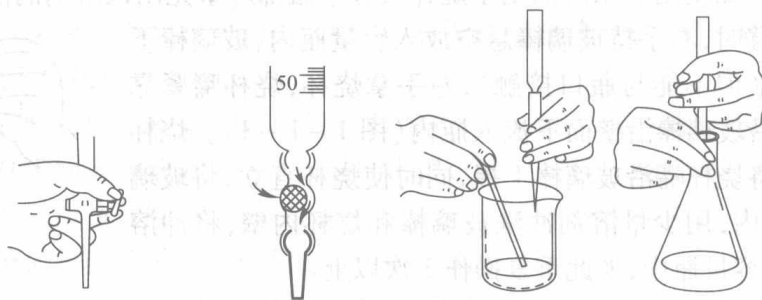


图 1-1-5 滴定管的使用

(四) 量筒的使用

量筒是化学实验室最常使用的度量液体体积的仪器。它有各种不同的容量,可以根据不同的需要来选用适当容量的量筒。例如,需要量取 8.0 mL 液体时,为了提高测量的准确度,应选择 10 mL 容量的量筒,此时测量体积的误差比选择 100 mL 的量筒降低了 10 倍。

量筒使用时,一般是左手扶住量筒中上部,右手握容器倒入液体。倒入液体时,容器的管口不应接触到量筒,液体注入时应沿量筒的管壁缓慢流下,一边倒入液体一边观察注入的液体量(图 1-1-6)。

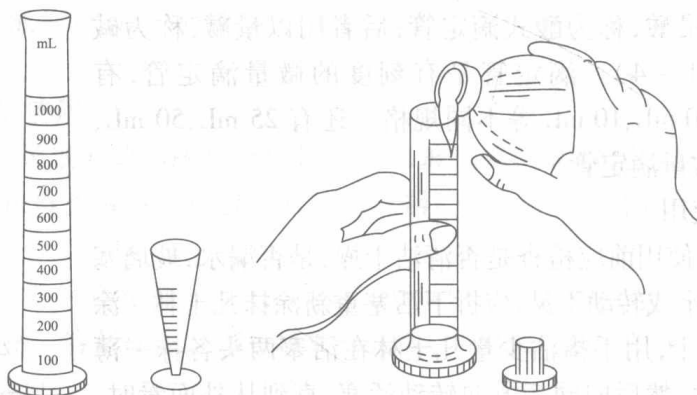


图 1-1-6 量筒的用法

读取量筒的刻度值,一定要使视线与量筒内液面(半月形弯曲面)的最低点处于同一水平线上(图 1-1-7),否则会增大体积的测量误差。量筒不能做反应器用,不能装热的液体。

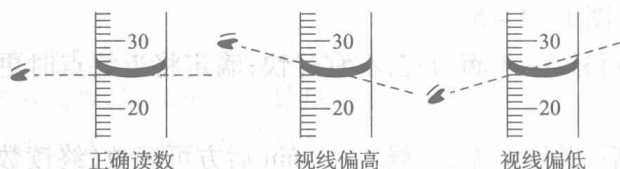


图 1-1-7 量筒刻度值的正确读取

三、枪式移液器的使用

枪式移液器又称微量加样器(移液枪),是目前实验室中常用的一种移液仪器,其使用方便,取液量精确,已逐渐代替刻度移液管。枪式移液器最早出现于1956年,由德国生理化学研究所的科学家 Schnitger 发明,其后,1958 年德国 Eppendorf 公司开始生产按钮式微量加样器,成为世界上第一家生产微量加样器的公司。这些微量加样器的吸液范围为0.1~5 mL,适用于临床常规化学实验室使用。微量加样器发展到今天,不但加样更为精确,而且品种也多种多样,如微量分配器、多通道微量加样器等,其加样的物理学原理有两种:①空气垫(又称活塞冲程)加样。②无空气垫的活塞正移动加样。

1. 枪式移液器的结构 见图1-1-8。

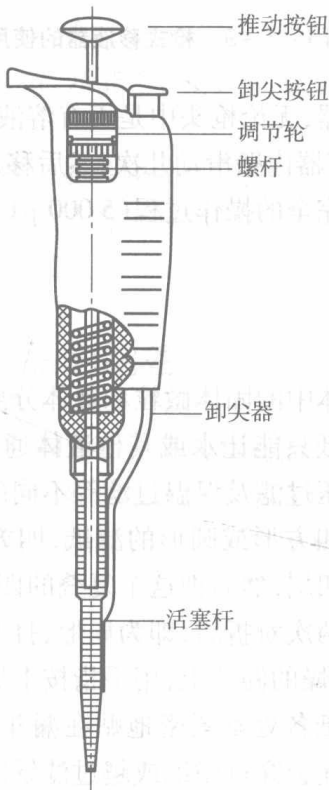


图1-1-8 枪式移液器的结构

2. 枪式移液器的使用

- (1) 将一个吸液吸头装在吸液杆上,推到套紧位置以保证气密性。
- (2) 转动调节轮,使读数显示为所要取液体的体积。
- (3) 轻轻按下推动按钮,将推动按钮由位置“0”推到位置“1”。
- (4) 手握移液器,将吸液吸头垂直浸入待取液体中,浸入深度为2~4 mm。
- (5) 经2~3 s后缓慢松开推动按钮,即从推动按钮位置“1”复位到“0”位,完成吸液过程,停留1~2 s后将移液器移出液面。
- (6) 用纱布或滤纸将尖头外表面的液体擦掉。注意不要接触到吸液吸头头部的孔

表面。

(7) 将吸液吸头头部放入被分配的容器中,使尖贴着容器的内壁,然后慢慢按下推动按钮至位置“1”,继续按至位置“2”,此时液体应全部排净(图 1-1-9)。



图 1-1-9 枪式移液器的使用

注意:套有枪头的微量移液器,无论枪头中是否有溶液,均不可平放,需直立架好。

(8) 将吸液吸头口部沿着容器内壁滑动几次,然后移走移液器,松开推动按钮,按卸尖按钮推掉吸液吸头,即完成一个完全的操作过程(5 000 μL 移液器不带卸尖器)。

四、实验室的一般操作

(一) 过滤

过滤是实验室操作中,将液体中的固体微粒和液体分离最常采取的方法。在实验室技术中,过滤时常常使用滤纸。滤纸只能让水或其他液体通过,而固体物质则留存在滤纸上面。过滤一般分为普通过滤、减压过滤及保温过滤等不同的类型。

1. 过滤前的准备 取一块四方形或圆形的滤纸,四方形滤纸的边长约有漏斗直径的两倍大,把这四方形滤纸对折成四层,然后把这个复叠的四方形剪成扇形,打开后得一圆锥体,把它放入漏斗中。圆形滤纸两次对折后,即为扇形,打开后放入漏斗。

折好的干燥滤纸应当放在干燥的漏斗上,用手指按上后,用欲过滤溶液的溶剂润湿,并用玻璃棒小心地挤压滤纸,使滤纸各处都紧密地贴在漏斗壁上。否则,在漏斗颈中充满了液体时再放出液体,有时部分沉淀会穿过滤纸或越过滤纸的边缘。

漏斗必须放正,它的边缘应在一个平面上,漏斗下部的尖端最好与盛滤液的容器的内壁接触,这样可避免液体流下时飞溅。

2. 过滤的基本操作 向漏斗内倾注液体时,一般是右手拿着烧杯,左手拿着玻璃棒。玻璃棒应和滤纸垂直,下端位于滤纸的双折部分上面,而不是正对滤纸的中心;烧杯上缘的凹部靠在玻璃棒上,以使过滤时液体沿着玻璃棒缓慢注入滤纸中。

(二) 加热

在实验过程中,常常需加热,常使用的仪器有酒精灯、喷灯、电炉等。凡液体的蒸发、蒸馏、煮沸时,不能明火加热,通常须通过石棉网,水、油、沙等导热物质,以免物质分解和仪器损坏。各导热器的使用与温度的高低颇有关系。

实验室中最常用的加热方法是水浴,水浴容器通常为圆形铜质锅,其盖是由铜片制成

的大小不同、互相覆盖的同心圆片,可移去或增添同心圆片以用于大小不同的烧瓶、烧杯和蒸发器等。现在实验室中常用的水浴加热的仪器是恒温水浴箱,其温度可调;另外,根据实验需要,还有恒温振摇水浴箱等。

(三) 混匀

为使化学反应能够充分进行,必须使反应体系内各种物质迅速地相互接触,因此除特别规定外,一般都需要将反应物彻底混匀。混匀的时候可根据所使用的器皿或液体容量而选用不同的方法。

1. 旋转混匀 手持容器作离心旋转,适用于未盛满液体的试管或小口器皿,如锥形瓶等。
2. 弹指混匀 左手持试管使直立,以右手示指轻击试管下部,使管内溶液作旋转流动。
3. 倒转混匀 适用于有玻璃塞的瓶子,如容量瓶等。
4. 弹动混匀 以右手大拇指、示指、中指握住试管上部,将试管放平,于左手掌中弹动。
5. 吸管混匀 用吸管将溶液反复吸放数次,适用于量少而无沉淀的液体。
6. 搅拌混匀 适应烧杯等大口容器所盛之溶液的混匀,一般在配制混合试剂时,用玻璃棒搅拌以助溶,或混匀大量的溶液。

第二节 常用实验样品的制备

在生物化学实验中,常常需要利用特定的生物样品去分析组织中不同物质的含量或组织中物质代谢的酶或相关过程。而这类实验在操作前往往需要将获得的样品预先做适当的处理,以期获得更为理想、准确的实验结果。因此,掌握适当的实验样品处理方法就成为做好此类实验的前提条件。

生物化学实验中,常用的实验样品制备的方法包括以下几种:

一、血液样品的制备

(一) 全血的制备

无论是收集动物还是人的血液,均应注意仪器的清洁与干燥,同时也要注意及时加入适当的抗凝剂以防止血液的凝固。一般在血液取出后,应迅速盛于含有抗凝剂的器皿中,同时轻轻摇动,使血液与抗凝剂充分混合,以免形成小凝块。取得全血如不立即进行实验,应储存于冰箱内。

常用的抗凝剂有草酸盐、柠檬酸盐、氟化钠及肝素等,可视实验要求而选用。一般实验用草酸盐即可,但它不适用于血钙测定。氟化钠因兼有抗凝及抑制糖酵解之作用,故可用于血糖测定,但因其也能抑制脲酶,故用脲酶测定尿素时,则不能应用。肝素虽好,但价格较贵。

抗凝剂的用量不应过多,否则影响实验结果,通常每毫升血液加 1~2 mg 草酸盐或 5 mg 柠檬酸钠或 5~10 mg 氟化钠,肝素仅需要 0.1~0.2 mg。最好将抗凝剂制成适当浓度