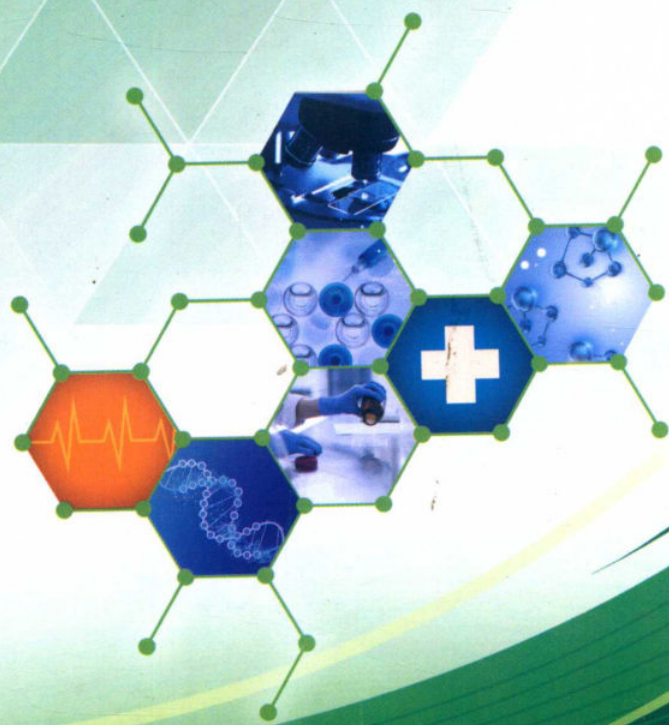



高等医药院校改革创新实验教材

生物化学与 分子生物学

实验 教程

主编 沈明花 张学武



 人民卫生出版社

高等医药院校改革创新实验教材

生物化学与 分子生物学

实验 教程

主 编 沈明花 张学武

编 委 (按姓氏笔画排序)

全吉淑 李天洙 沈明花 张学武

陈丽艳 金 明 金梅花 柳明洙

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

生物化学与分子生物学实验教程 / 沈明花, 张学武
主编. —北京: 人民卫生出版社, 2019
ISBN 978-7-117-28857-6

I. ①生… II. ①沈…②张… III. ①生物化学-实验-医学院校-教材②分子生物学-实验-医学院校-教材 IV. ①Q5-33 ②Q7-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2019) 第 201584 号

人卫智网	www.ipmph.com	医学教育、学术、考试、健康, 购书智慧智能综合服务平台
人卫官网	www.pmph.com	人卫官方资讯发布平台

版权所有, 侵权必究!

生物化学与分子生物学实验教程

主 编: 沈明花 张学武
出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)
地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号
邮 编: 100021
E - mail: pmph@pmph.com
购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830
印 刷: 保定市 中画美凯印刷有限公司
经 销: 新华书店
开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 10
字 数: 243 千字
版 次: 2019 年 11 月第 1 版 2019 年 11 月第 1 版第 1 次印刷
标准书号: ISBN 978-7-117-28857-6
定 价: 30.00 元
打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com
(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)



前言

从 20 世纪 90 年代的精英教育到 21 世纪的大众教育,高等教育事业在改革与普及的同时也带来一系列问题。目前大多数教材针对精英教育而编写,追求教学内容的高精尖。这导致很多教材不能适应目前的教学要求,一些普通院校只能在这些教材中选用很少部分内容使用。为此,笔者结合学生的基础知识、接受能力和教材的适应性,以期编写一本既适应教学要求,又能满足学生需要的教材。

生物化学与分子生物学是生命科学中一门重要的专业基础课程,它的理论体系是在实验基础上建立的。它既是一门理论课也是一门实验课,与许多学科有着密切的联系,与人的生命活动息息相关,与医药、食品、环保、能源、工业和农业都有着千丝万缕的联系,它是 21 世纪的标志性学科。

本书比较系统、全面地介绍了生物化学与分子生物学常用实验技术与方法。全书共分四篇:第一篇介绍了生物化学与分子生物学实验的基本要求及基本操作和常用仪器的使用方法;第二篇介绍了生物化学与分子生物学实验技术与原理,包括离心技术、层析技术、电泳技术、分光光度技术、印迹技术和聚合酶链反应等;第三篇主要介绍了验证性实验,包括蛋白质、酶、糖类、脂类、核酸的分离、制备、性质功能及定性和定量分析等;第四篇介绍了综合性实验,内容涵盖了血清 γ -球蛋白的分离纯化与鉴定,转氨酶的转氨基作用与活力测定,碱性磷酸酶的分离纯化与动力学研究,脂蛋白的分离、提纯和电泳鉴定,以及 DNA 的分离提取与含量测定等。主要是在基础实验之外进一步构思一些比较复杂、完整的实验过程。此外,附录部分收录了化学试剂与保存、缓冲溶液的配制方法、实验室常用酸碱的密度和浓度、离心机转速与离心力的换算和临床生化常用单位换算表等内容。

本书的实验方法严谨可靠,可操作性强,可作为高等医学院校各专业的生物化学与分子生物学实验教材,也可供医学专业研究生和从事生物化学工作的研究者参考。

由于编者知识水平有限,错误和疏漏之处在所难免,竭诚希望广大读者给予批评和建议。

主编

2019 年 4 月

目 录

附录1	化学试剂与操作	132
附录2	常用仪器的使用与校准	133
附录3	常用仪器的使用与校准	134
附录4	常用仪器的使用与校准	135
附录5	常用仪器的使用与校准	136

第一篇 生物化学与分子生物学实验的基本要求及基本操作

第一章	生物化学与分子生物学实验的基本要求	2
第二章	生物化学与分子生物学实验的基本操作	7
第三章	常用仪器的使用方法	13

第二篇 生物化学与分子生物学实验技术与原理

第一章	离心技术	22
第一节	基本原理	22
第二节	离心机的种类和基本结构	24
第三节	离心分离方法	26
第二章	层析技术	28
第三章	电泳技术	33
第一节	概述	33
第二节	区带电泳的分类	34
第三节	常见的几种电泳方法	35
第四章	分光光度技术	38
第五章	印迹技术	40
第六章	聚合酶链反应	42

第三篇 验证性实验

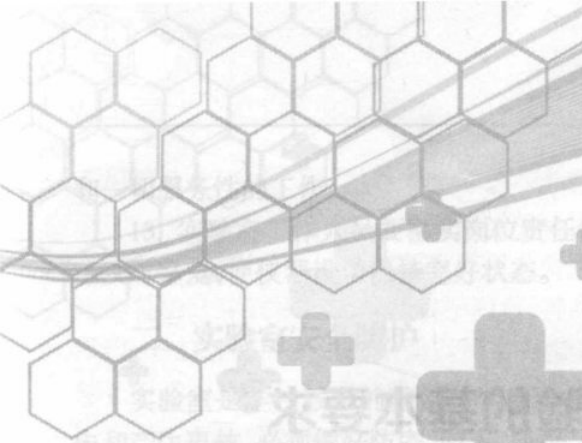
第一章 蛋白质	48
实验一 蛋白质及氨基酸的呈色反应.....	48
实验二 蛋白质等电点测定和沉淀反应.....	50
实验三 蛋白质含量的测定方法.....	53
实验四 醋酸纤维素薄膜电泳分离血清蛋白.....	56
实验五 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法测定蛋白质的相对分子质量	59
实验六 纸层析法分离氨基酸.....	62
实验七 离子交换层析法分离氨基酸.....	64
第二章 酶	67
实验一 酶的基本性质测定实验.....	67
实验二 酵母蔗糖酶 K_m 值测定	72
实验三 血清转氨酶的活力测定.....	75
实验四 淀粉酶的活力测定.....	78
实验五 生物氧化过程相关酶活性的测定.....	79
实验六 胰蛋白酶比活力的测定.....	83
第三章 糖类	86
实验一 糖酵解中间产物的鉴定.....	86
实验二 血糖浓度的测定.....	88
实验三 胰岛素、肾上腺素对血糖浓度的影响	90
实验四 饱食与饥饿对肝糖原的影响.....	91
第四章 脂类	94
实验一 血清三酰甘油浓度的测定.....	94
实验二 血清总胆固醇测定.....	95
实验三 血清脂蛋白琼脂糖凝胶电泳.....	98
第五章 核酸	100
实验一 紫外分光光度法测定核酸含量.....	100
实验二 定磷法测定核酸含量.....	101
实验三 二苯胺法测定 DNA 含量	104
实验四 苔黑酚显色法测定 RNA 含量	105
实验五 质粒 DNA 的提取	107

第四篇 综合性实验

实验一 血清 γ -球蛋白的分离纯化与鉴定	110
实验二 转氨酶的转氨基作用与活力测定	115
实验三 碱性磷酸酶的分离纯化与动力学研究	118
实验四 脂蛋白的分离、提纯和电泳鉴定	125
实验五 DNA 的分离提取与含量测定	127

附 录

附录 1 化学试剂与保存	132
附录 2 缓冲溶液的配制方法	135
附录 3 实验室常用酸碱的密度和浓度	143
附录 4 离心机转速与离心力的换算	144
附录 5 临床生化常用单位换算表	146



生物化学与分子生物学实验的基本要求及基本操作

第一篇

生物化学与分子生物学实验的基本要求及基本操作

(一) 实验室安全

1. 非工作人员不得进入仪器室,室内无人时随时关好门窗。
2. 仪器室内不准吸烟,不准饮食,谢绝参观。
3. 发生紧急情况时,保护好现场,及时向领导、治安部门报告。

实验室的安全是实验顺利进行的前提,也是保障实验人员生命财产的关键。在实验过程中,必须严格遵守实验室的安全规定,做到安全第一,预防为主。一旦发生事故,应立即启动应急预案,妥善处理,并及时上报相关部门。

在实验过程中,应始终保持良好的实验习惯,如穿戴实验服、佩戴手套等,以最大限度地减少安全隐患。同时,应定期对实验室的安全设施进行检查和维护,确保其处于良好的运行状态。

此外,还应加强对实验人员的培训,提高其安全意识和操作技能。通过定期的安全教育和应急演练,使实验人员能够熟练掌握各种安全操作规程,能够在紧急情况下迅速做出反应,最大限度地减少事故造成的损失。

总之,实验室的安全是实验工作的基石。只有确保实验室的安全,才能为实验的顺利进行提供坚实的保障。每一位实验人员都应牢记安全第一的原则,共同营造一个安全、和谐、高效的实验环境。

在实验过程中,应始终保持良好的实验习惯,如穿戴实验服、佩戴手套等,以最大限度地减少安全隐患。同时,应定期对实验室的安全设施进行检查和维护,确保其处于良好的运行状态。

此外,还应加强对实验人员的培训,提高其安全意识和操作技能。通过定期的安全教育和应急演练,使实验人员能够熟练掌握各种安全操作规程,能够在紧急情况下迅速做出反应,最大限度地减少事故造成的损失。

总之,实验室的安全是实验工作的基石。只有确保实验室的安全,才能为实验的顺利进行提供坚实的保障。每一位实验人员都应牢记安全第一的原则,共同营造一个安全、和谐、高效的实验环境。

第一章

生物化学与分子生物学实验的基本要求

一、实验室规则

1. 每位同学都应该自觉遵守课堂纪律,维护课堂秩序,不迟到,不早退,不得在实验室内大声喧哗。
2. 实验前必须认真预习,熟悉本次实验的目的、原理、操作步骤,懂得每一操作步骤的意义和了解所用仪器的使用方法,否则不能开始实验。
3. 实验过程中要听从老师的指导,严肃认真地按操作规程进行实验,实验时认真进行实验记录,实验完毕及时整理数据,按时上交实验报告。
4. 实验台面应随时保持整洁,仪器、药品摆放整齐。切勿使试剂、药品洒在实验台面和地上。实验完毕,仪器洗净放好,将实验台面抹拭干净,按规定处理好废物、废液,做好清洁工作。
5. 使用仪器、药品、试剂等各物品必须注意节约。公用试剂用完后,应立即盖严并放回原处。多取的药品不得重新倒入原试剂瓶内,严禁用口吸或用皮肤接触有毒药品和试剂。
6. 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,注明品名、浓度和日期等,放在冰箱中的易挥发溶液和酸性溶液,必须严密封口。
7. 洗涤和使用仪器时,应小心仔细,防止损坏仪器。贵重精密仪器要精心使用,加倍爱护,应严格遵守操作规程,发现故障须立即报告教师,不得擅自动手检修。仪器损坏时,应如实向教师报告,并填写损坏仪器登记表,然后补领。
8. 一般的废液体可倒入水槽内,同时放水冲走。强酸、强碱溶液必须先用水稀释。废纸屑及其他固体废物和带渣滓的废物倒入废品缸内,不能倒入水槽或到处乱扔。对环境有严重污染的和有毒的废弃物应统一放置并进行特殊处理。
9. 实验室内严禁吸烟。不得将含易燃溶剂的溶液近火。对电炉等电源,应严格做到:人在炉火在,人走炉火关。乙醇、丙酮、乙醚等易燃品不能直接加热,并要远离火源操作和放置。实验完毕,应立即关好水龙头,拔去电炉开关,拉下电闸。离开实验室以前应认真、负责地进行水电检查,严防发生安全事故。
10. 实验室内一切物品,未经本室负责教师批准,严禁带出室外,借物必须办理登记手续。
11. 不能将食物和饮料带入实验室,更不能在实验室内吃零食。
12. 每次实验课由班长负责安排值日生。值日生的职责是负责当天实验室卫生、安全

和一切服务性的工作。

13. 实验室工作人员要落实岗位责任制。仪器设备要做到定期检查、维护保养,出现故障及时修复,使仪器设备保持完好状态。

二、实验室安全防护

实验室是学校教学的重要科学基地,储备有贵重的仪器和化学危险药品等。为防止损失和产生事故,必须做好防盗、防火、防爆、防水、防毒和安全用电等工作。

(一) 防盗

1. 加强防卫,经常检查,堵塞漏洞。
2. 非工作人员不得进入仪器室,室内无人时随即关好门窗。
3. 仪器室内不会客,不住宿,未经领导同意,谢绝参观。
4. 发生盗窃案时,保护好现场,及时向领导、治安部门报告。

(二) 防火、防爆

1. 严禁在实验室内生火取暖。
2. 易燃、易爆的化学药品要妥善分开保管,应按药品的性能,分别做好贮藏工作,注意安全。
3. 实验时要严格按照操作规程进行,谨防失火、爆炸等事故发生。
4. 使用可燃性气体时,要防止气体逸出,室内通风要良好。
5. 实验室如果着火不要惊慌,应采取适当措施灭火,可根据不同情况,选用水、沙、泡沫、二氧化碳或四氯化碳灭火器灭火。

(三) 防水

1. 实验室的上、下水必须保持通畅。
2. 冬季做好水管的保暖和放空工作,要防止水管受冻爆裂酿成水患。

(四) 防毒

1. 实验室必须做好防毒工作,有毒物质应妥善保管和贮藏,实验后的有毒残液要妥善处理。
2. 凡易燃、易毒、腐蚀剂等危险性药品要设专柜单独存放。要定期检查,严格管理,做到双人管理、双人收发、双人领取、双人记账、双人把锁。
3. 实验中严格遵守操作规程,制作有毒气体要在通风橱内进行,保持实验室内通风良好。
4. 实验室备有废液缸,实验室附近有废液处理池,防止有毒物质随意排放。
5. 实验前应了解所使用药品的毒性及防护措施,确认清楚后才可使用。

(五) 安全用电

1. 实验室电路及用电设施要定期检修,保证安全,绝不“带病”工作。
2. 如有电器失火,应立即切断电源,用沙子或灭火器扑灭。在未切断电源前,切忌用水或泡沫灭火器灭火。
3. 遇有人身触电事故,应立即切断电源,及时进行人工呼吸,急送医院救治。

(六) 个人防护

1. 当化学物质溅入眼睛后,应立即用水彻底清洗。冲洗时,应将眼皮撑开,小心地用自

来水冲洗数分钟,再用蒸馏水冲,然后去医院进行治疗。

2. 进入实验室必须穿工作服,根据需要选戴各种手套。

3. 出实验室时必须摘下手套,在公共区域内不得穿工作服。

三、实验记录及实验报告

(一) 实验记录

实验记录要如实、准确、详尽、清楚。记录如果有误,会使整个实验失败,必须重做实验。从实验课开始就要培养严谨的科学作风,养成良好习惯。

每次实验要做到课前认真预习,熟悉实验原理和方法,将实验内容等简明扼要地写在记录本上,做到心中有数。

实验过程中应及时、准确、如实地记录所观察到的现象和测量数据,记录时必须用钢笔或圆珠笔,必须公正客观,不夹杂主观因素。

实验中要记录的各种数据,都应事先设计一定的表格,准确记下正确的读数,如称量试材样品的重量、滴定管的读数、分光光度计的读数等。

实验记录要注意有效数字,例如,光密度值为 0.050,不应写成 0.05。每一个结果至少要重复观测两次以上,当符合实验要求并确知仪器工作正常后再写在记录本上。

实验中使用仪器的类型、编号以及试剂的规格、化学式、分子量、准确的浓度等,都应记录清楚。多人一组的实验,必须每人都做记录。

(二) 实验报告

实验结束后,应及时整理和总结实验结果,写出实验报告。通过实验报告的写作,分析总结实验的经验和问题,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。

实验报告的基本格式如下:

实验序号、名称:_____ 年级:_____ 专业:_____ 姓名:_____ 日期:_____

(1) 目的和要求;

(2) 内容与原理;

(3) 主要仪器及试剂配制;

(4) 操作方法与实验步骤;

(5) 结果与讨论。

书写实验报告应注意以下几点:

1. 实验报告必须独立完成,严禁抄袭。写实验报告要用实验报告专用纸,以便教师批阅,不要用练习本和其他片页纸。

2. 简明扼要地概括出实验原理,涉及的化学反应,最好用化学反应式表示。

3. 应列出所用的试剂和主要仪器。特殊的仪器要画出简图并配有适当的图解,说明化学试剂时要避免使用未被普及的商品名或俗名。

4. 实验方法、步骤的描述要简洁,不要照抄实验指导书或实验讲义,但要写明白,以便他人能够重复。

5. 为了使实验结果能够重复,必须详细记录实验现象的所有细节。仔细观察,特别注意那些未想到的实验现象,这是十分重要的。这些观察常常会引起意外的发现,报告并注意

分析实验中的真实发现,对学生将是非常重要的科学研究训练。

6. 各种实验数据要尽量总结成各种图表,一目了然,以便比较。实验作图要严格要求,必须使用坐标纸,每个图都要有明显的标题;坐标轴的名称要清楚完整,要注明合适的单位;坐标轴的分度数字要与有效数字相符,并尽可能简明,若数字太大,可以化简,并在坐标轴上乘以 10 的方次。实验结果的讨论要充分,尽可能多查阅一些有关的文献和教科书,充分运用自己学过的知识和生物化学原理进行深入探讨,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、实验的准确度

生物化学实验是以活的生命体为对象,对生物体内存在的主要大分子物质,如糖、脂肪、蛋白质、核酸等进行定性或定量的分析测定。定性分析是确定存在物质的种类,或粗略计算物质所占的比例;而定量分析则需要确定物质的精确含量。因此分析工作者要根据实验要求对实验结果进行分析和总结,要善于分析和判断结果的准确性,认真查找可能出现误差的原因,并进一步研究减少误差的办法,以不断提高所得结果的准确度。

产生误差的原因很多,一般根据误差的性质和来源可把误差分为两类,即系统误差和偶然误差。

(一) 系统误差

系统误差是指一系列测定值存在有相同倾向的偏差,或大于真值,或小于真值,一般是恒定的。多是由于某种确定的原因引起的,在一定条件下可以重复出现,误差的大小一般可以测出。经分析找出原因,可采取一定措施,减少或纠正。

1. 系统误差的来源

(1) 方法误差:如用滤纸称量易潮解的药品;做生物实验特别是酶的实验时没有考虑温度的影响等。

(2) 仪器误差:如量取液体时,按烧杯的指示线量取液体往往准确度降低,需要用量筒量取;在配制标准溶液时量筒同样不够精确,要选用等体积的容量瓶定容到刻度线;不同的天平其精度差别很大,如果需要称量 100g 以上的物体,使用托盘天平即可,但如称量 1g 的样品,选用扭力天平比较方便;称量 10mg 以内的样品则必须使用感量为万分之一克的分析天平或电子天平称取。

(3) 试剂误差:如试剂不纯或蒸馏水不合格,引入微量元素或对测定有干扰的杂质,就会造成一定的误差。

(4) 操作误差:如在使用移液管量取液体时,由于每人的操作手法不同,可能会存在一定的操作误差。特别是在读取数据时,目光是否平视,视线与液体弯月面是否相切,都可能成为生化实验中造成较大误差的主要原因。

2. 系统误差的校正

(1) 仪器校正:在实验前对使用的砝码、容量皿或其他仪器进行校正,对 pH 计、电接点温度计等测量仪器进行标定,以减少误差。

(2) 空白实验:在任何测量实验中都应包括有对照的空白实验。用同体积的水或样品中的缓冲液代替待测溶液,并严格按照待测液和标准液同法处理,即得到所谓的空白溶液。在最后计算时,应从实验测得的结果中扣除从空白溶液中得到的数值,即可得到比较准确

的结果。

总之,在分析测定工作中,应该合理安排实验,以尽量减少系统误差或使系统误差在测定中不起主要作用。

(二) 偶然误差

与系统误差不同,误差的大小、正负是偶然发生的。误差时大时小,时正时负,不固定,一般不可预测。分析的步骤愈多,出现这种误差的机会也愈多,所以不易控制。如遇到这种情况时,应对仪器、试剂、方法作全面检查。一般生物类实验的影响因素是多方面的。常常由于某些条件,如温度、光照、气流、反应时间、反应体系的微小变化都会引起较大的误差。特别是某些因素的作用机制目前仍不十分清楚,所以有些实验结果重现性较差。

偶然误差初看起来似乎没有规律性,但经过多次实验,便可发现偶然误差分布有以下规律。一是正误差和负误差出现的概率相等;二是小误差出现的频率高,大误差出现的频率较低。因此解决偶然误差主要可通过进行多次平行实验,然后取其平均值来弥补。测试的次数越多,偶然误差的概率就越小。

(张学武)

第二章

生物化学与分子生物学实验的基本操作

一、玻璃和塑料仪器的清洗

(一) 玻璃仪器的洗涤

1. 一般仪器 烧杯、试管、离心管等普通玻璃仪器,可直接用毛刷蘸去污剂刷洗,然后用自来水冲洗,直至容器内不挂水珠即可。最后用少量蒸馏水冲洗内壁 2~3 次,倒置晾干即可。

2. 容量分析仪器 容量瓶、滴定管及吸管等容量仪器,用后自来水多次冲洗,如能清洁(壁不挂水珠),再用蒸馏水少量冲洗 2~3 次,晾干即可备用。若仍不干净如附有油污等,则须于晾干后放入铬酸洗液内浸泡数小时,然后倒净洗液或从洗液中捞出,用自来水充分冲洗至水不显黄色后再冲几次,最后用少量蒸馏水冲洗 2~3 次,晾干备用。

在做酶学实验时,对仪器的清洁要求更高,如有极微量的污物(如重金属离子)即可导致整个实验失败。因此,必要时仪器经上述方法洗涤后,还需用稀盐酸或稀硝酸洗涤,以除去铬及其他金属离子,然后再用自来水、蒸馏水冲洗。

3. 石英及玻璃比色皿的清洗 绝不可用强碱清洗,因为强碱侵蚀抛光的比色皿。只能用洗液或 1%~2% 的去污剂浸泡,然后用自来水冲洗,这时用一支绸布包裹的小棒或棉花球棒刷洗,效果会更好,清洗干净的比色皿也应使内、外壁不挂水珠。

(二) 塑料器皿的洗涤

聚乙烯、聚丙烯等制成的塑料器皿,在生物化学实验中已用得越来越多。第一次使用塑料器皿时,可先用 8mol/L 尿素(用浓盐酸调节 pH 至 1)清洗,接着依次用去离子水、1mol/L KOH 和去离子水清洗,然后用 1×10^{-3} mol/L EDTA 除去金属离子的污染,最后用去离子水彻底清洗。以后每次使用时,可只用 0.5% 的去污剂清洗,然后用自来水和去离子水(或蒸馏水)清洗。

二、洗液的配制

(1) 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,常用的配方如表 1-1 所示。

表 1-1 铬酸洗液的配置

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

配制方法为: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,边加硫酸边搅动混合。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。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。

注意:因为已经确定铬有致癌作用,因此配制和使用洗液时要极为小心!

(2) 10% 尿素液:为蛋白质的良好溶剂,适用于洗涤盛血的容器。

(3) 草酸盐液:用于清洗过锰酸钾的痕迹。

(4) 硝酸液:用 1:1 的硝酸水溶液,清洗 CO₂ 测定器及微量滴定管。

(5) 乙二胺四乙酸二钠(EDTA-Na₂)液:5%~10% 的 EDTA-Na₂ 液可用于洗涤器皿内的无机盐类。

(6) 工业浓盐酸:可洗去水垢或某些无机盐沉淀。

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

三、玻璃器皿和塑料器皿的干燥

玻璃器皿的干燥方法可根据不同仪器的种类而定。一般来说,洗净后的玻璃器皿,如不急用应倒放在晾架上令其自然干燥。若有急用可放在烘烤箱中烤干,但容量玻璃仪器,如容量瓶、吸量管、滴定管以及烧瓶、结构复杂的玻璃仪器等,严禁烘烤。此类仪器,如急用可采用水泵抽气法干燥。

塑料器皿需要干燥,可用烘箱或烘干机在 110~120℃ 进行干燥,但应注意若温度太高,容易使其变形或损坏。硝酸纤维素的塑料离心管加热时会发生爆炸,所以绝对不能放在烘箱中干燥,只能用冷风吹干。

此外,玻璃和塑料器皿不要用丙酮荡洗再吹干的方法来干燥,因为那样会有残留的有机物覆盖在器皿内表面,从而干扰生物化学反应。

四、常用玻璃仪器的使用

1. 吸量管 吸量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的量器。常用的吸量管有以下几种。

(1) 刻度吸量管:刻度吸量管是多刻度吸量管,有 0.1ml、0.2ml、0.5ml、1.0ml、2.0ml、5.0ml、10.0ml 等规格。吸量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。实验室所用的刻度吸量管多属于刻度到尖端的吸管,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

管是单标的,并且在 its 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,较其他吸量管准确。奥氏吸管的容量包括遗留在吸管尖端的液体,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 1ml、2ml、5ml 等规格。

吸量管的使用方法:使用吸量管时,用拇指和中指靠近顶端部分。将管的下端插入液体里,用吸球吸入液体至所需刻度的标线上 1~2cm 处(插入液面下的部分不可太深,以免管的外壁黏附的溶液太多;也不可太浅,防止空气突然进入管内,将溶液吸入吸球内)。放液时,用食指控制上端管口,使液面慢慢下降至与所需的刻度相切的位置时按住管口,将已充满液体的吸量管提出液面,把吸管提到液体刻度与眼睛在同一水平线上,调整好所需溶液的剂量。然后小心松开上口,使溶液缓缓自由流出。最后再根据规定吹出或者不吹出尖端的一滴。

2. 容量瓶及量筒 容量瓶是一个细长颈、梨形的平底瓶,具有磨口塞,颈上有标线,表示在所示温度下(一般为 20℃),当液体充满到标线时,液体体积恰好与瓶下所注明的体积相等。容量瓶有 10ml、25ml、50ml、100ml、200ml、250ml、500ml、1 000ml、2 000ml 等规格。容量瓶是装量型的定量容器,多用作稀释溶液或配制精确试剂。当将液体加至刻度后须用瓶塞塞好,颠倒混匀数次方可使用。

容量瓶是较精确的定量容器,不得直接加热或烘烤,也不应将盛有溶液的容量瓶放入冰箱内。当配制溶液需要加热促其溶解时,必须在烧杯中加热溶解,并待溶液达到室温后,再定量地转入容量瓶内,然后稀释到刻度,并要注意摇匀。

当所量取的液体量要求不十分精确时,可使用量筒,因其较使用吸量管或容量瓶更为简便。量筒的底座及筒身是连在一起的,因而不能量取过热液体,更不能直接加热,以防炸裂量筒。

3. 滴定管 滴定管是供容量分析滴定之用,有带玻璃塞或橡皮管两种类型。前者用于量酸,后者用于量碱。

滴定管有刻度较精细的微量滴定管,如 1.0ml、2.0ml、5.0ml、10ml 等规格。还有 25ml、50ml、100ml 等规格的常量滴定管。使用滴定管应该注意以下事项:

(1) 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,用手指蘸取少量凡士林在活塞两头各涂一薄层,将活塞插入槽内,然后向同一方向转动活塞,直到从外面看全部透明为止。涂好凡士林后,在活塞小头的槽上套一橡皮圈,以防活塞滑脱。

(2) 使用前必须认清每一格表示多少毫升。先用少量滴定液清洗滴定管 2~3 次,然后方可装液。装液后,管内如有气泡必须排出。

(3) 滴定前应先读取起始点。滴定时,左手控制玻璃塞,右手持接收瓶,边滴边摇,密切注意被滴定溶液的颜色变化。

(4) 装置滴定管时,管身必须与地面垂直。读数时眼睛与溶液月形面下缘在同一水平线上,不要仰头或低头读数。

(5) 如用酸式滴定管装碱性溶液,滴定后应立即洗净,以免活塞粘连。

五、微量加样器的使用

微量加样器(移液器)最早出现于 1956 年,由德国生理化学研究所的科学家 Schmitzer 发明。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。这些微量加样器适用于临床常规生物化学实验室使用。

微量加样器发展到今天,加样更为精确,品种多种多样,加样的物理学原理有两种:①使用空气垫(又称活塞冲程)加样;②使用无空气垫的活塞正移动加样。不同原理的微量加样器有其不同的特定应用范围。

活塞冲程(空气垫)加样器可很方便地用于固定或可调体积液体的加样,加样体积的范围在小于 $1\mu\text{l}$ 至 10ml 。一次性吸头是本加样系统的一个重要组成部分,其形状、材料特性及与加样器的吻合程度均对加样的准确度有很大的影响。

活塞正移动加样器可用于如具有高蒸气压、高黏稠度及密度 $>2.0\text{g}/\text{cm}^3$ 、易产生气溶胶的液体。活塞正移动加样器的吸头一般由厂家配套生产,不能使用通常的吸头或不同厂家的吸头。

多通道加样器、电子加样器和分配器的原理与上述相同。多通道加样器通常为8通道或12通道,与 $8\times 12=96$ 孔微孔板一致。多通道加样器的使用不仅可减少实验操作人员的加样操作次数,而且可提高加样的精密密度。电子加样器和分配器为半自动加样系统,电子加样器具有很高的加样重复性,应用范围广。

微量加样器的使用方法:转动调节环至需要的量程,选取合适的吸头安放在加样器套筒上。把按钮压至停点,垂直握持加样器,使吸头浸入液样中,缓慢平稳地松开按钮,吸液样,然后将吸头提离液面。将吸头口贴到容器内壁或伸至所加液面下,注意不要全部没过,平稳地把按钮压到停点,再把按钮压至第二停点以排出剩余液体。压住按钮,同时提起加样器,使吸头完全离开容器再将按钮松开,按吸头弹射器除去吸头,注意最后将微量加样器调至最大量程。

六、一般操作技术

1. 混匀法 欲使一化学反应充分进行,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。混匀方式大致有以下几种,可随使用器皿的液体容量而选用。

(1) 旋转混匀法: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,如三角瓶等。

(2) 弹指混匀法:左手持试管使其直立,以右手食指轻击试管下部,使管内溶液作旋转流动。

(3) 倒转混匀法:适用于有玻璃塞的瓶子,如容量瓶等。

(4) 弹动混匀法:以右手大拇指、食指、中指握住试管上部,将试管放平,于左手掌中弹动。

(5) 吸管混匀法: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) 搅拌混匀法:适用于烧杯等大口容器所盛溶液的混匀,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。

2. 保温与加热 为使某一化学反应在一定的温度下进行,常需要保温;为促进或停止化学反应,有时需要加热。

(1) 保温:常用恒温箱或恒温水浴进行,后者的温度较前者稳定。

(2) 加热:加热常用两种方法,一是直接把试管、烧杯等器皿在酒精灯、电炉或煤气火焰