


“十四五”高等教育课程改革新形态教材

# 生物工程综合实验

张玉霞 孙碧珠 © 主编



 南京大学出版社

# 生物工程综合实验

主 编 张玉霞 孙碧珠

副主编 李刚勇 谢 军 刘 宇 张云霄

参 编 罗中钦 王 臻 李先磊 贺爱珊

特配电子资源



- 配套资料
- 拓展阅读
- 交流互动



南京大学出版社

## 内容提要

生物工程及其相关专业是应用型很强的专业,实验课是教学的一个重要环节,它是培养学生动手能力、分析能力和创新能力的一个重要且不可替代的手段。《生物工程综合实验》一书是在多年的教学实践的基础上编写而成的,构建以能力培养为核心的多层次教学内容体系。全书分为七章,包含生物工程实验基础知识、基础生物学实验、生物化学实验、细胞生物学实验、微生物学实验、基因工程实验及生化工程实验,内容新颖,涉及面广。

本书可供高等院校的生物技术、生物工程、制药、化妆品等专业本科学生使用,也可供其他生命科学相关专业师生参考。

## 图书在版编目(CIP)数据

生物工程综合实验 / 张玉霞, 孙碧珠主编. —南京:  
南京大学出版社, 2022.12

ISBN 978 - 7 - 305 - 26315 - 6

I. ①生… II. ①张… ②孙… III. ①生物工程—实  
验 IV. ①Q81—33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2022)第 227317 号

出版发行 南京大学出版社

社 址 南京市汉口路 22 号 邮 编 210093

出版人 金鑫荣

书 名 生物工程综合实验

主 编 张玉霞 孙碧珠

责任编辑 甄海龙 编辑热线 025 - 83592146

照 排 南京开卷文化传媒有限公司

印 刷 南京人民印刷厂有限责任公司

开 本 787 mm×1092 mm 1/16 印张 12.75 字数 330 千

版 次 2022 年 12 月第 1 版 2022 年 12 月第 1 次印刷

ISBN 978 - 7 - 305 - 26315 - 6

定 价 39.00 元

网 址: <http://www.njupco.com>

官方微博: <http://weibo.com/njupco>

微信服务号: njyuexue

销售咨询热线: (025)83594756

\* 版权所有,侵权必究

\* 凡购买南大版图书,如有印装质量问题,请与所购  
图书销售部门联系调换

# 前 言

生命科学的研究发展日新月异,各种新技术、新方法层出不穷。教育部工程教育生物工程专业认证也对生物工程实验提出了更高的要求。现在各高校开设的实验项目和以往出版的教材上的实验项目有很大的不同,很难找到一本适用于高等院校不同层次的生物工程实验教材。因此,我们将多年来在教学和科研实践中积累的生物工程研究技术编写成《生物工程综合实验》这本教材,旨在让学生掌握生物工程研究的基本操作技能和新的实验技术,为学生独立思考问题和后期进行研究打下基础,同时适于教学改革和专业认证的需要。

教材的编写按照基础性、前沿性及通用性的要求,力求简明精练,条理清晰,内容新颖,注重激发学生的求知欲及思考问题的能力,开阔读者的视野。全书共分七章,包含60个实验,内容丰富,涵盖面广,内容既有目前生物工程研究领域经常用到的经典实验,又有不少现代生物工程相关的新技术,目的是让学生掌握生物工程研究的最基本的技术与方法,对培养学生的动手能力、分析解决问题的能力都有很大帮助。

教材的编写由长期从事生物工程实验教学和科研的老师完成,参加编写的人员有张玉霞、孙碧珠、李刚勇、谢军、刘宇、张云霄、罗中钦、王臻、李先磊、贺爱珊等。教材的出版得到了南京大学出版社的大力支持。在此,一并表示诚挚的敬意!

由于编者水平有限,书中难免有不足之处,敬请广大同行和读者批评指正,使教材得以不断改进。

编 者

2022年2月10日

# 目 录

第一章 生物工程实验基础知识	1
第一节 生物工程实验室规则	3
第二节 生物实验室安全规则	4
第三节 实验室药品管理	6
第四节 实验室应急处理办法	7
第五节 微生物实验室菌种管理制度	9
第二章 基础生物学实验	11
实验一 普通光学显微镜的使用和生物绘图技术	13
实验二 植物制片的染色及显微化学鉴定方法	17
实验三 植物细胞有丝分裂标本制作与观察	20
实验四 植物细胞微丝束的光学显微镜观察	22
实验五 植物染色体标本的制备与观察	24
实验六 叶绿体的分离与荧光观察	26
实验七 植物气孔比较及蒸腾速度测定	28
实验八 植物细胞的质壁分离与质壁分离复原	30
实验九 植物组织及植物形态观察	32
实验十 血细胞的观察及人类 ABO 血型鉴定	35
实验十一 质粒 DNA 的提取及鉴定	37
实验十二 实验动物安全规范及鲫鱼的解剖	40

<b>第三章 生物化学实验</b> .....	45
实验十三 总糖和还原糖的测定(3,5-二硝基水杨酸法) .....	47
实验十四 蛋白质含量的测定(考马斯亮蓝染色法) .....	50
实验十五 脂肪碘值的测定 .....	52
实验十六 熊果酸的制备及测定 .....	54
实验十七 原花色素的提取及测定 .....	56
实验十八 脂肪酸 beta 氧化 .....	59
实验十九 牛乳中酪蛋白和乳糖的制备与鉴定 .....	62
实验二十 猪胰糜蛋白酶的粗提、纯化、结晶和检测 .....	64
实验二十一 $\alpha$ 淀粉酶的纯化、活力测定和米氏常数测定 .....	67
实验二十二 蛋白质相对分子质量的测定 ——SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法 .....	72
<b>第四章 细胞生物学实验</b> .....	77
实验二十三 细胞形态结构观察与细胞计数 .....	79
实验二十四 细胞中多糖与过氧化物酶的定位 .....	83
实验二十五 细胞膜的通透性 .....	86
实验二十六 细胞融合 .....	88
实验二十七 DNA 的细胞化学 ——福尔根(Feulgen)反应 .....	91
实验二十八 植物细胞骨架的光学显微镜观察 .....	93
实验二十九 液泡系与线粒体的活体染色 .....	95
实验三十 细胞的减数分裂 .....	98
实验三十一 动物骨髓细胞染色体标本的制备 .....	101
实验三十二 细胞核与线粒体的分级分离 .....	103
实验三十三 细胞的显微测量 .....	107

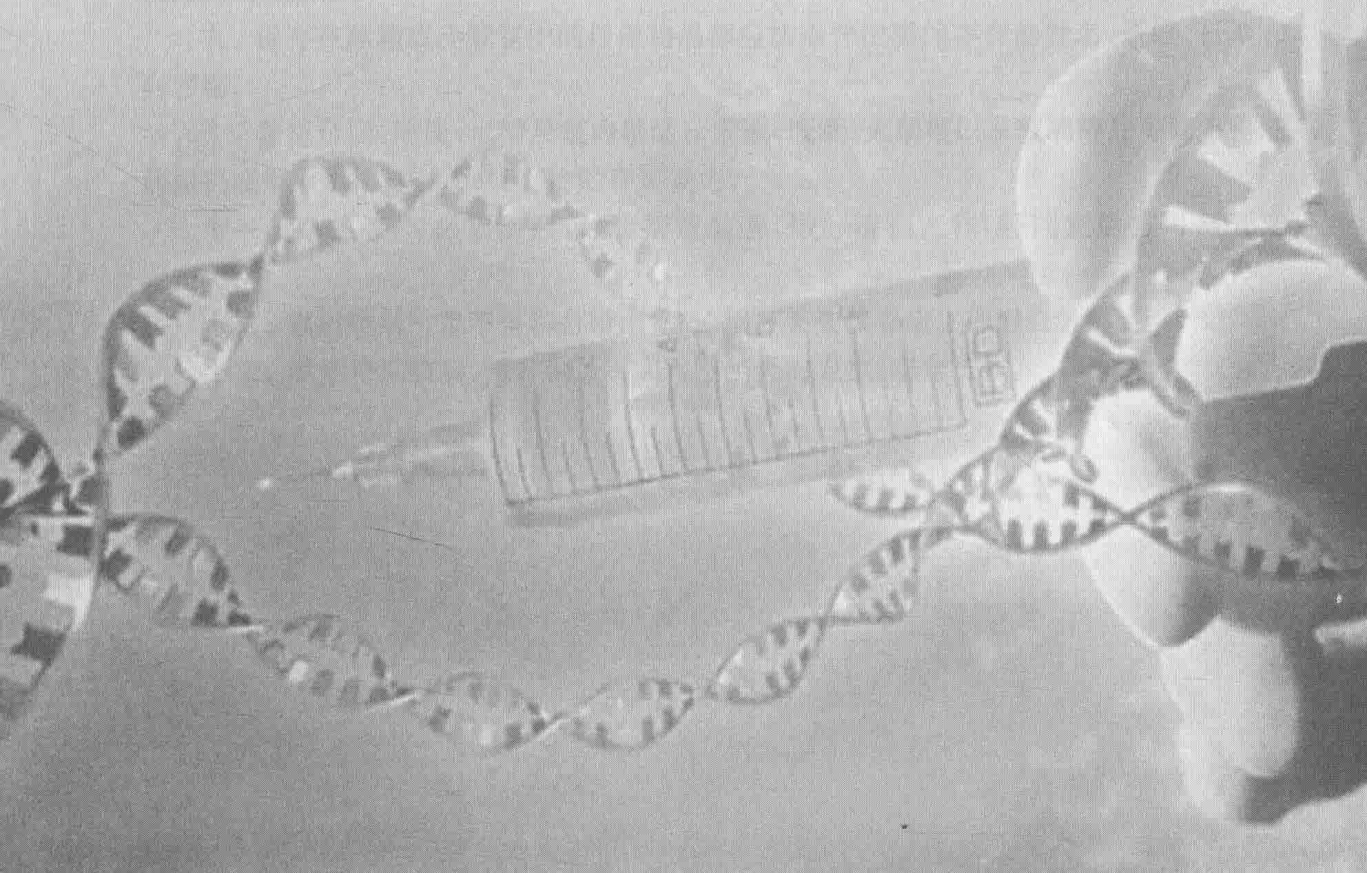
实验三十四 实验小鼠饲养与基本实验操作 .....	109
<b>第五章 微生物学实验 .....</b>	<b>113</b>
实验三十五 微生物实验室标准化操作规程及无菌操作技术 .....	115
实验三十六 培养基制备与高压蒸汽灭菌 .....	118
实验三十七 细菌革兰氏染色 .....	122
实验三十八 酵母菌的形态观察及死活细胞的鉴定 .....	124
实验三十九 糖发酵试验 .....	126
实验四十 大肠杆菌生长曲线的制作 .....	128
实验四十一 酸奶的制作 .....	130
实验四十二 土壤中微生物分离纯化培养 .....	132
实验四十三 水中细菌总数的测定 .....	134
实验四十四 噬菌体的分离、纯化及效价测定 .....	137
<b>第六章 基因工程实验 .....</b>	<b>141</b>
实验四十五 植物基因组 DNA 的提取 .....	143
实验四十六 动物组织基因组 DNA 的提取 .....	145
实验四十七 PCR 反应扩增目的 DNA .....	147
实验四十八 DNA 的限制性内切酶酶切分析 .....	149
实验四十九 感受态细胞的制备 .....	152
实验五十 质粒 DNA 转化感受态大肠杆菌 .....	154
实验五十一 重组质粒的构建 .....	156
实验五十二 植物总 RNA 的提取 .....	158
实验五十三 植物 cDNA 的合成 .....	160
实验五十四 外源基因的表达检测 .....	162
实验五十五 琼脂糖凝胶电泳 .....	164

实验五十六 蛋白质免疫印迹法 .....	166
<b>第七章 生化工程实验 .....</b>	<b>169</b>
实验五十七 猪胰糜蛋白酶的制备和纯度鉴定 .....	171
实验五十八 生长激素蛋白表达与复性 .....	175
实验五十九 生物活性多肽合成与鉴定 .....	179
实验六十 双水相萃取 $\alpha$ 淀粉酶的分配平衡实验 .....	182
<b>附 录 .....</b>	<b>187</b>
附录一 培养基的配制 .....	189
附录二 染色剂的配制 .....	191
附录三 玻璃仪器的洗涤 .....	194
<b>参考文献 .....</b>	<b>196</b>

第一章 生物工程实验常用规则

## 第一章

# 生物工程实验基础知识





## 第一节 生物工程实验室规则

一、实验前认真预习实验内容,明确实验目的要求,熟悉基本原理、方法步骤和实验技能。

二、实验时遵守操作规程,遵守课堂纪律,不迟到,不早退。

三、进入实验室必须穿上实验服,留长发者必须将长发挽在背后,按号就位,听从指导老师的指导,严格认真地按操作规程操作,注意与同组同学的配合。

四、细心观察实验现象,实验数据和现象详细记录在实验记录本上,实事求是填写报告单,不允许抄袭别人的实验成果,积极思考分析实验结果。

五、爱护仪器设备,随时保持仪器的清洁;爱惜药品、材料,一切仪器、药品和材料,未经指导教师同意,不得带出实验室。

六、共用仪器的领用、借出和归还,均应办理登记手续,并检查仪器的完好情况。无论何种仪器设备,任何个人不得以任何理由长期占用。

七、试剂及蒸馏水不得滥用,按需要用量取用试剂,注意节约。

八、学生在实验中损坏仪器,应主动向老师报告。凡不按操作规程进行实验而损坏仪器的均应赔偿。

九、保存在冰箱或冷藏室中的任何物品都应加盖并注明保存者的姓名、班级、日期和内容物。

十、保持台面、地面、水槽及室内整洁。废液、废纸、火柴梗以及玻璃碎片等物不得随便乱扔或倒入水槽,应倒入废弃物贮存装置内。

十一、实验完毕,必须清点仪器,摆放整齐,做好清扫工作,经同意后方可离开实验室。

十二、室内物品一律不得私自带出室外,损坏丢失仪器应立即报告教师。

十三、学生轮流值日,值日生负责实验室当天的卫生、安全工作。

## 第二节 生物实验室安全规则

一、实验前检查仪器是否完整无损,装置是否正确;了解实验室安全用具的排放位置,熟悉各种安全用具(灭火器、沙桶、急救箱)的使用方法。

二、实验严格按照操作规程进行,禁止用嘴吸取菌液或试剂。若盛菌试管不慎打破、皮肤灼伤等意外情况发生,应立即报告实验指导老师,及时处理,切勿隐瞒。

三、实验进行时不得擅自离岗。熟悉实验室内水、电、气开关的分布情况,遇紧急情况时应立即关闭相应开关,水电、煤气、酒精灯等一经使用完毕立即关闭。

四、消防器材要定期检查,放置于便于取用的位置,保证随时可用,且消防器材周围不可堆放其他物品。

五、涉及有毒、刺激性、挥发性试剂的操作必须在通风橱内进行,违规者追究责任。涉及有毒、强腐蚀性试剂操作时,应戴好防护手套,在实验室指定实验台上操作,不可污染其他实验台。

六、使用时切勿使极易挥发和易燃的有机溶剂(乙醚、乙醛、丙酮、苯等)接近火焰。必须远离明火,用后立即塞紧瓶塞,放在阴凉处。

七、注意用电安全,不得用湿手接触电源插座。

八、了解化学药品的警告标志(图 1-1)。



图 1-1 危险化学药品分类所用标志

九、实验室任何药品不得进入口中或碰触伤口,浓酸、浓碱等具有强腐蚀性的药品,切勿溅在皮肤或衣服上,尤其不能溅入眼睛中,有毒药品更应注意。

十、火灾紧急对策,如遇火情应立即呼叫,并拨 119 报火警。

十一、不能在实验室内饮食、吸烟、打闹,实验结束时必须洗净双手方可离开实验室。

十二、实验结束离开实验室前,应切断电源(必须通电的除外)、水源、气源,关好门窗,所有实验需过夜的,应安排人员值守,防止安全事故的发生。

十三、生物材料如微生物材料、动物组织和血液等都可能存在细菌和病毒感染的潜伏性危险,因此处理各种生物材料必须谨慎、小心,做完实验后必须用肥皂、洗涤剂或消毒液洗净双手。

十四、实验涉及实验动物时,应严格按照动物实验伦理要求执行。

### 第三节 实验室药品管理

一、实验室药品由专职实验员负责管理,实验室配有专门的化学药品、毒品安全柜。购入药品后,逐项登记建账,并将各类药品分类合理存放。易燃、易爆、有毒害药品都须入柜保管,易燃、易爆、剧毒、强腐蚀品不得混放,并保持干燥、通风、阴凉。

二、危险品专柜采用双人管理,严格取用登记手续,确保不发生意外。经常检查危险物品,防止因变质、分解造成自燃、自爆事故。剧毒物品的容器、变质料、废渣及废水等应妥善处理。

三、易爆、易燃、剧毒药品的存放应贴好标签,标明名称、浓度、存量、进货日期、有效期。有毒废物(液)的处理应符合环保要求,不得随意倾倒。

四、剧毒药品实行双人双锁保管制度,领用剧毒品,必须严格执行《危险剧毒品领用制度》,经学校相关部门审批后,方可领取。做好剧毒品的安全防盗工作,如发生化学危险品、剧毒物品被盗,立即报告校领导并及时通知公安机关。

五、药品室内严禁使用明火,杜绝因混放而诱发爆炸、燃烧等事故的发生。经常通风,保持室内卫生清洁。

六、进出实验室或使用后,必须对操作现场与周围环境做认真检查,对遗存或散落的危险剧毒品及时清扫处理。

七、实验室内不得存放与本室无关的物品,特别是有安全隐患的物品。

八、实验室管理人员要严格按照制度和要求,定期对药品进行清点,了解药品消耗情况,提出计划,及时补充,控制易燃、易爆和有毒物品的存放总量。

## 第四节 实验室应急处理办法

实验过程中,如发生意外事故,应立即采取适当急救措施。

### 一、化学污染

- (1) 立即用流动清水冲洗被污染部位。
- (2) 立即到急诊室就诊,根据造成污染的化学物质的不同性质用药。
- (3) 在发生事件后的 48 小时内向有关部门汇报。

### 二、皮肤、黏膜、角膜被污染

- (1) 皮肤若意外接触到血液、体液或其他化学物质时,立即用肥皂和流水冲洗。
- (2) 若患者的血液、体液意外进入眼睛、口腔,立即用大量清水或生理盐水冲洗。
- (3) 及时到急诊室就诊,请专科医生诊治。

### 三、灼伤

(1) 碱灼伤:应立即用大量水冲洗,再用 1%~2% 醋酸或 3% 硼酸溶液进一步冲洗,最后再用水洗。如果碱溅入眼中,应先用大量流水冲洗,再选择适当的中和药物如 2%~3% 硼酸溶液大量冲洗。

(2) 一般酸灼伤:先用大量流动清水冲洗,然后用 2%~5% 的碳酸氢钠溶液、淡石灰水或肥皂水进行中和,切忌未经大量流水彻底冲洗就用碱性药物在皮肤上直接中和,这样会加重皮肤的损伤。

(3) 浓硫酸灼伤:皮肤被浓硫酸沾污时切忌先用水冲洗,以免硫酸水合时强烈放热而加重伤势,应先用干抹布吸去浓硫酸,然后再用清水冲洗。

(4) 强酸灼伤:强酸溅入眼内,用眼喷淋器冲洗时应拉开上下眼睑,使酸不至于残留在眼内和下穹窿中,并立即送医院眼科治疗。

### 四、割伤

先取出伤口内的异物,然后在伤口处撒上消炎粉后用纱布包扎。

### 五、烫伤

可先用稀  $\text{KMnO}_4$  或苦味酸溶液冲洗灼伤处,再在伤口处抹上黄色的苦味酸溶液、烫伤膏或万花油,切勿用水冲洗。

## 六、起火

若因酒精、苯、乙醚等起火,立即用湿抹布、石棉布或沙子覆盖燃烧物,火势大时可用泡沫灭火器。若遇电器起火,应立即切断电源,用  $\text{CO}_2$  灭火器或  $\text{CCl}_4$  灭火器灭火,不能用泡沫灭火器,以免触电。

## 第五节 微生物实验室菌种管理制度

### 一、菌种的采购

从菌种保藏中心购入菌种斜面或冻干菌种,根据工作需要,购买国内保藏中心提供的菌种斜面提前1个月填写采购申请单,冻干菌种提前2个月申请购买,国外保藏中心提供的菌种应提前3个月申请购买。

### 二、菌种的接收

检定菌应设专人保管,管理人员应接受过专业培训,有足够的菌种保存经验。接收菌种时,应核实菌种的名称、编号、传代代数、数量、有效期等,并调查清楚菌种的保存条件和注意事项。填写菌种接收登记表,内容包括:菌种名称、菌种保藏中心编号、传代代数、接收日期、菌种来源等。新购入的斜面菌种应在 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 保存,并在1周内转接。

### 三、菌种的复苏

使用人员应根据需要向菌种管理人员领取菌种,仔细核对标签上的菌名、编号,并在《菌种接收及领用登记表》上记录菌名、数量、领用人、领用日期等信息。菌种复苏应在生物安全柜内操作,解冻后不得重新冷冻和再次使用。

### 四、菌种保存

实验室全部菌种都应由菌种负责人记录在册并妥善保存,菌种应贴上明显的标签,标签内容应包括菌名、菌号、传代日期和有效期。冻干菌种在低温冰箱 $-20^{\circ}\text{C}$ 冷冻。为减缓培养基的水分蒸发,延长保藏时间,可将菌种保藏管的棉花塞换成无菌橡胶塞,放在 $2^{\circ}\text{C}\sim 8^{\circ}\text{C}$ 的冰箱内保藏。每天检查一次保存菌种的冰箱温度并做记录,每周检查菌种管的棉塞是否松动,菌种外观及枯燥状态,如有异常应及时处理,并填写菌种检查记录。每次移植培养后,要与原种的编号、名称逐一核对,确认培养特征和温度无误后,再继续保存。

### 五、菌种的传代

每株菌种应建立菌种使用及传代记录,斜面菌种应根据其特性决定传代时间间隔。实验室正在使用的菌种由各使用者自行纯化和更新斜面。实验人员传代使用须核对名称、编号,传代代数及日期,所用培养基传代和接种规程。任何人未经允许,不得私自将菌种带出实验室或给予他人,违者从重处分或采取其他必要的措施。