

<<生物工程实验技术>>

图书基本信息

书名：<<生物工程实验技术>>

13位ISBN编号：9787030344892

10位ISBN编号：7030344898

出版时间：2012-6

出版时间：科学出版社

作者：常景玲 编

页数：292

字数：511000

版权说明：本站所提供下载的PDF图书仅提供预览和简介，请支持正版图书。

更多资源请访问：<http://www.tushu007.com>

<<生物工程实验技术>>

内容概要

《生物工程实验技术》的编写主要从实验设计出发，以发酵过程控制、产物提取和分离纯化为主线，突出每个实验的基本原理、操作技能及数据处理方法。

《生物工程实验技术》共7章，分别为实验室与实验的一般规则、生物过程参数检测与控制、发酵工程技术、酶工程技术、细胞工程技术、基因工程技术和生物产品分离纯化，每章都有相应的参考文献，书后还摘编了生物工程实验常用的附录。

目前，为适应“厚基础、重应用、高工程素质”的人才培育模式，大多高校的生物工程及其相关专业均开设有综合大实验课程，教学一般采用连续课时，《生物工程实验技术》为此课程提供了具有代表性的、成套的综合大实验内容，便于教学中选用。

《生物工程实验技术》可作为高等院校生物工程、生物科学、食品科学、微生物等专业教学用书，也可供微生物发酵行业有关研究人员、企业技术人员等参考。

<<生物工程实验技术>>

作者简介

常景玲、华承伟、孙婕、陈建军

<<生物工程实验技术>>

书籍目录

前言第1章 实验室与实验的一般规则1.1 实验室一般规则1.2 实验方案的确定1.3 实验的实施1.4 数据处理与分析1.5 生物反应过程的优化与放大1.6 实验文献与网络资源参考文献第2章 生物过程参数的检测与控制实验2.1 生物量的测定实验2.2 微生物菌体密度的测定实验2.3 亚硫酸盐法测定体积溶氧系数实验2.4 动态法测定体积溶氧系数实验2.5 发酵液黏度的测定实验2.6 酸度和pH的测定实验2.7 总糖、还原糖含量的测定实验2.8 搅拌功率的测定实验2.9 氨基氮和铵离子含量的测定实验2.10 溶磷含量的测定实验2.11 生物效价的测定实验2.12 在线溶氧电极测发酵体系临界溶氧浓度实验2.13 发酵废液COD的测定参考文献第3章 发酵工程技术3.1 原料制备技术实验3.1 去离子水的制备实验3.2 淀粉水解糖的制备实验3.3 糖蜜原料处理技术3.2 典型产品制备技术实验3.4 红霉素发酵实验3.5 谷氨酸发酵实验3.6 D-核糖发酵实验3.7 发酵生产L-乳酸实验3.8 酒精发酵实验3.9 啤酒酿造实验3.10 葡萄酒酿造实验3.11 红曲霉固态发酵产红曲红色素实验3.12 酸乳制作实验3.13 秸秆厌氧发酵制备沼气参考文献第4章 酶工程技术实验4.1 淀粉酶发酵制备实验4.2 从鸡蛋清中提取溶菌酶实验4.3 多酚氧化酶提取及固定化实验4.4 多酚氧化酶催化制备茶黄素参考文献第5章 细胞工程技术实验5.1 西洋参细胞悬浮培养实验5.2 植物的组织培养实验5.3 枯草芽孢杆菌原生质体融合实验5.4 小鼠骨骼肌细胞的培养参考文献第6章 基因工程技术实验6.1 PCR扩增目的基因实验6.2 重组载体构建实验6.3 感受态细胞的制备实验6.4 细菌转化与筛选实验6.5 重组子筛选及PCR鉴定实验6.6 重组质粒酶切鉴定参考文献第7章 生物产品分离纯化7.1 细胞破碎技术概述实验7.1 机械法(超声波法)破碎酵母细胞及破碎率的测定实验7.2 物理法(反复冻融法)破碎酵母细胞实验7.3 酶溶法破碎大肠杆菌细胞7.2 发酵液的预处理概述实验7.4 发酵液的絮凝实验7.5 发酵液中金属离子的去除实验7.6 离心法分离酵母菌发酵液实验7.7 板框压滤机分离米曲霉发酵液实验7.8 超滤膜分离枯草芽孢杆菌发酵液7.4 生物产品提取纯化技术实验7.9 盐析实验7.10 透析实验7.11 离子交换实验7.12 凝胶层析实验7.13 淀粉酶的双水相萃取实验7.14 红霉素的溶媒萃取实验7.15 单萜类化合物的提取与检测实验7.16 人参总皂苷的提取与检测实验7.17 β -胡萝卜素的提取与检测7.5 结晶与重结晶技术实验7.18 谷氨酸的结晶与重结晶7.6 生物产品浓缩与干燥技术实验7.19 多糖的真空浓缩实验7.20 多糖的冷冻干燥实验7.21 生物产品的喷雾干燥参考文献附录一、常用培养基二、常用试剂的配制方法三、常用缓冲液的配制四、硫酸铵饱和度计算及加入方式五、生物工程单元操作实验中常用数据表六、高压蒸汽灭菌常用压力、温度与时间七、实验室常用化学杀菌剂和消毒剂八、发酵中常用有机氮源的成分参考文献

<<生物工程实验技术>>

章节摘录

第1章 实验室与实验的一般规则1.1 实验室一般规则1.1.1 实验室规则要点(1) 每个同学都应遵守学习纪律, 维护实验室秩序, 保持室内安静, 不大声说笑或喧哗。

(2) 实验前认真做好预习, 明确目的和要求, 了解本次实验内容的基本原理和操作步骤。

(3) 在实验过程中听从教师的指导, 严肃认真地按操作规程进行实验, 并简要、准确地将实验结果及原始数据记录在专用的实验记录本上, 养成良好的、实事求是的科学作风。

课后及时总结复习, 根据原始记录进行整理, 并写出实验报告, 按时送交任课教师评阅。

(4) 保持实验室环境和仪器的整洁是做好实验的关键。

必须维持实验桌面及试剂药品架上的清洁整齐, 不要乱放和乱扔, 仪器和试剂药品放置要井然有序。公用试剂药品用后立即盖好放回原处, 要特别注意保持药品及试剂的纯净, 严禁混杂。

(5) 使用仪器、药品、试剂和各种器材都必须注意爱护及节约, 不得浪费。

洗涤和使用玻璃仪器时, 应谨慎仔细, 防止损坏; 在使用贵重精密仪器时, 应严格遵守操作规程, 发现故障立即报告教师, 不要擅自动手拆散和检修。

(6) 废弃溶液可倒入水槽内, 但强酸、强碱溶液必须先用水稀释后, 再放水冲走。

强腐蚀性废弃试剂药品、废纸及其他固体废物或带有渣滓沉淀的废液均应倒入废品缸内, 不能倒入水槽内。

(7) 实验室内一切物品, 未经本室教师许可, 严禁携出室外, 借物时必须办理登记手续。

仪器损坏时, 应随即向教师报告, 如实说明情况并认真登记后方可补领。

(8) 必须遵守和熟悉实验室安全规章及防护知识, 不得违反和破坏。

禁止在实验室内吸烟。

使用电炉时应有人在旁, 不可擅自离开不管, 用毕后切记断电。

(9) 每次实验结束后, 应各自将仪器清理放置(部分玻璃器皿需倒置安放), 并整理好实验桌面上的物品。

值日生要负责当日实验室的卫生和安全检查, 做好全部清理工作, 离开实验室前应关上水、电、燃气、门窗等, 严防安全隐患事故的发生。

(10) 对实验内容和安排不合理之处可提出改进意见, 做到教学相长。

对实验中的一切反常现象可开展分析和讨论。

(11) 洗净的仪器要放在架上或干净的纱布上晾干, 不能用抹布擦拭, 更不能用抹布擦拭仪器内壁。

(12) 挪动干净玻璃仪器时, 勿使手指接触仪器内部。

(13) 取出的试剂和标准溶液, 如未用尽, 切勿倒回原试剂瓶内, 以免掺混。

(14) 凡是发生烟雾、有毒气体及有臭味气体的实验, 必须在通风橱内进行。

(15) 用实验动物进行实验时, 不许戏弄动物。

进行杀死或解剖等操作, 应按规定方法进行, 绝对不能用动物、手术器械或药物开玩笑。

(16) 一般容量仪器的容积都是在20℃下校准的。

使用时如温差在5℃以内, 容积改变不大, 可以忽略不计。

1.1.2 实验室基本设施的使用1.1.2.1 生物工程实验室的常规仪器、设备1.温度控制系统(1) 冰箱: 根据药品、试剂及多种生物制剂保存的需要, 必须具备不同控温级别的冰箱, 最常使用的有4℃、-20℃、-80℃冰箱。

4℃ 适合储存某些溶液、试剂、药品等。

-20℃ 适合某些试剂、药品、酶、血清、配好的抗生素、DNA和蛋白质样品等的保存。

-80℃ 适合某些长期低温保存的样品、纯化的样品、特殊的低温处理消化液等的保存。

0~10℃ 的冷柜适合低温条件下的电泳、层析、透析等实验。

(2) 液氮罐: 有些实验材料、某些器官组织、细胞株、菌株及纯化的样品等, 要求速冻和长期保存在超低温环境下, 就需要一个液氮罐(-196℃), 其具有经济、省力和较好地保持细胞生物学特性的优点。

(3) 培养箱: 37℃ 恒温箱用于细菌的固体培养和细胞培养。

<<生物工程实验技术>>

CO₂培养箱适用于培养各种细胞，可恒定地提供一定量的CO₂（通常5%），用来维持培养液的酸度（pH）。

37 恒温空气摇床可进行液体细菌的培养。

（4）水浴锅：用于保温。

25 ~ 100 水浴摇床可用于分子杂交实验及各种生物化学酶反应等实验的保温。

25 ~ 100 水浴箱用于常规实验。

（5）烘箱：主用于烘干实验器皿，有些需要温度高些，有些需要温度低些。

用于RNA方面的实验用具，需要在250 烘箱中烘干，有些塑料用具只能在42 ~ 45 的烘箱中进行烘干。

2.水的净化装置随着分子生物学的飞速发展，许多实验对水纯度的要求越来越高。

常用的水的净化装置有以下几种。

（1）蒸馏水器：单蒸水常难以满足实验要求，可用双蒸水、三蒸水配液。

多次蒸馏水可除去水中非挥发性杂质，不能完全除去水中溶解的气体杂质。

（2）离子交换器：用离子交换法制取的水，称为去离子水，其去离子效果好，但不能除去水中的非离子型杂质，其中常含有微量的有机物（树脂等）。

（3）超纯水：用蒸馏水、离子交换水、反渗透纯水作为供水，用磁铁耦合齿轮泵作用使水循环。超纯水用于PCR、氨基酸分析、DNA测序、酶反应、组织和细胞培养等。

3.菌消毒设备（1）蒸汽消毒锅：用于小批量物品的随时消毒。

大批实验物品、试剂、培养基可使用大型消毒器定时进行消毒。

（2）紫外线、75%乙醇、0.1%SDS（消毒剂）。

一些不耐高压、高温消毒的用具可用紫外线照射，或用乙醇和SDS浸泡。

紫外线照射使用方便，但灭菌效果与距离有关，且产生臭氧污染，常用于无菌室、超净台和塑料用具的消毒。

（3）滤器滤膜：不耐高温、高压的试剂用其除菌。

（4）煮沸消毒：主要用于金属器械的消毒和急需时采用。

4.计量系统（1）称量系统：（各种天平）台秤、托盘天平、扭力摆动天平、光电分子天平、精密电子分析天平。

（2）液体体积的度量。

精量器：移液管、微量取液器。

粗量器：刻度试管、烧杯、锥形瓶、量筒。

（3）pH测量。

pH计：测定溶液中H⁺的直接电位的仪器，主要通过一对电极，在不同的pH溶液中产生不同的电动势，用pH表示出来。

pH试纸：只适用于培养液、酚饱和液、缓冲液或其他试剂溶液pH的粗略估计；而大部分试剂配制严格要求pH，需精确度高（小数点后两位）的pH计。

（4）OD值测量：光密度计、分光光度计是利用物质在可见光和紫外线区域中的吸收光谱来鉴定该物质的性质及含量的一种仪器。

它由光源、单色器、吸收池、接收器、测量仪表或显示屏幕所组成。

OD值是许多溶液中溶质定量的方便指标之一，通过所产生的单色光来测定某一溶液对该单色光的吸收值，利用它可进行核酸溶液定量和纯度的初步判断。

5.离心机离心技术是研究生物结构和功能不可缺少的一种物理技术手段。

因为各种物质在沉淀系数、浮力和质量等方面有差异，可利用强大的离心力场，使其分离、纯化和浓缩。

目前有各种各样的离心机，可供少于0.05mL到几升的样品离心之用。

离心技术应用广泛，包括收集和分离细胞、细胞器和生物大分子等。

据其转速的不同，离心机可分为以下几种类型。

（1）常速离心机：最大转速8000r/min，最大离心力10000g。

<<生物工程实验技术>>

医用或台式离心机：是离心机中最简单而廉价的，最常用于收集快速沉降系数的物质，如红细胞、粗大的沉淀物、酵母菌和细菌等。

低速冷冻离心机：主要用于细胞、细胞核、细胞膜及细菌的沉淀和收集等。

(2) 高速离心机：最大转速25000r/min，最大离心力100000g。

有冷冻和常温两种，多用于制备和收集微生物、细胞碎片、细胞、大的细胞器、硫酸铵沉淀物及免疫沉淀物等。

(3) 超速离心机：最大转速120000r/min，最大离心力500000g。

主要用于DNA、RNA、蛋白质等生物大分子以及细胞器、病毒等的分离纯化；样品纯度检测；沉降系数和相对分子质量的测定等。

6.超净工作台内有紫外灯、照明灯，还应有酒精灯火焰、75%乙醇等灭菌的设备，是一种提供局部洁净度的设备。

其原理是鼓风机驱动空气，经过低、中效的过滤器后，通过工作台面，使实验操作区域成为无菌的环境。

超净台按气流方向的不同大致分为如下几种类型。

(1) 侧流式：净化后，气流从左侧或右侧通过工作台面流向对侧，或者从上往下或从下往上流向对侧，它们都能形成气流屏障而保障台面无菌。

缺点：在净化气流和外面气体交界处，可由气体的流向而出现负压，使少量的未净化气体混入，而造成污染。

(2) 外流式：气流面向操作人员的方向流动，从而保证外面气体不能混入。

缺点：在进行有害物质实验时，对操作人员不利，但可采用有机玻璃把上半部分遮挡起来，使气流从下方流出。

7.电泳系统电泳技术用于检测、鉴定各种生物大分子的纯度、含量及描述它们的特征，甚至还是分离、纯化、回收和浓缩样品的技术之一。

核酸和蛋白质等都带有电荷，当它们被置于电场中时，能够移动。

电泳装置由两部分组成：电源装置和电泳槽装置。

(1) 电源装置：电源需通过稳压器稳流，既能提供稳定的直流电，又能输出稳定的电压，可用于三种电泳仪。

常度稳压电泳仪：输出电压0~500V，0~15mA；中度稳压电泳仪：输出电压400~1000V；高度稳压电泳仪：输出电压1000V以上的电源装置。

(2) 电泳槽装置：可分为以下两种。

水平式电泳槽：一般分为微型电泳槽和大号水平式电泳槽；垂直式电泳槽：分垂直平板电泳槽和圆柱形电泳槽装置。

8.PCR仪PCR (polymerasechainreaction) 仪也称DNA热循环仪、基因扩增仪，它使一对寡核。

苷酸引物结合到正负DNA链上的靶序列两侧，从而酶促合成拷贝数百万倍的靶序列DNA片段。

它的每一循环包括在三种不同温度下进行的DNA变性、引物复性、DNA聚合酶催化的延伸反应三个过程。

9.凝胶成像分析系统对电泳后含溴化乙锭 (EB) 核酸样品的观察分析。

10.干燥设备 (1) 真空加热干燥箱：适用于热敏性、易分解、易氧化和复杂成分物料的快速干燥。

(2) 电泳凝胶干燥箱：对电泳后的凝胶进行脱水干燥的仪器，一般可将凝胶干燥到一些玻璃纸上，干燥后的凝胶易于保存。

(3) 液氮冷冻干燥：适用于活性蛋白质样品的干燥与结晶。

(4) 真空泵：许多实验都需要抽真空，如乙醇沉淀后核酸样品的干燥、电泳凝胶的干燥等。

11.其他 (1) 微波炉：便于一些溶液的快速加热和定温加热，电泳琼脂糖凝胶配制、溶化等。

(2) 制冰机：用于制造大多数核酸、蛋白质的实验操作所需的低温环境，以减少核酸酶或蛋白酶的水解。

(3) 层析装置：(色谱分离) 是一种分离多组分混合物的有效物理方法。

(4) 磁力搅拌器：多角度旋转混匀器、快速振荡混合器，用于混合液体和液固样品的仪器。

<<生物工程实验技术>>

- (5) 组织匀浆器：超声组织及细胞破碎器，用其进行样品的分离提纯实验。
- (6) 通风橱：很多溶剂能逸出毒气，故必备通风装置，放射性实验还要有有机玻璃屏蔽。
- (7) 玻璃蒸馏器、电热加帽、变压器：用于酚等有机溶剂的蒸馏。
- (8) 真空印记系统、DNA合成/测序仪：这些都是对核酸进行深度研究的必备仪器。
- (9) 吸头、Eppendorf管（EP管）：微量移液器吸头（吸液尖）、EP管（微量离心管）可洗涤，用硅化消毒后可反复使用。

对一些要求严格的实验，如RNA的提取、保存等操作，应使用新的消毒吸头与EP管。

另外还应备有常用规格的离心管（1000mL、500mL、250mL、50mL、7mL等）及96孔、24孔、12孔、6孔的细胞培养塑料平板等。

(10) 小型设备、用具：定时器、滤膜、保鲜膜、防护眼镜、鸭嘴镊、常规的玻璃或塑料器皿（包括平皿、试管、烧杯、量瓶、试剂分液漏斗，避光保存的试剂应使用棕色试剂瓶，如饱和酚、巯基乙醇等）、记号笔、各种手套（PE、乳胶、家用、防酸的等）。

1.1.2.2 部分设备的使用方法
1.恒温空气摇床的使用（1）将样品瓶牢固放入弹簧夹中；（2）接通电源开关，仪器进入准备状态；（3）参数设定（设定温度、时间、转速等参数）；（4）按启动键仪器开始工作，按暂停键可暂停托盘的旋转；（5）按电源键，显示屏显示消失，关闭电源总开关。

2.超净工作台的使用（1）使用工作台时，先用经清洁液浸泡的纱布擦拭台面，然后用消毒剂擦拭消毒。

（2）接通电源，提前30min打开紫外灯照射消毒，处理净化工作区内工作台表面积累的微生物，15min后，关闭紫外灯，开启鼓风机。

（3）工作台面上，不要存放不必要的物品，以保持工作区内的洁净气流不受干扰。

（4）操作结束后，清理工作台面，收集各废弃物，关闭风机及照明开关，用清洁剂及消毒剂擦拭消毒。

（5）最后开启工作台紫外灯，照射消毒30min后，关闭紫外灯，切断电源。

3.低温台式高速离心机的使用（1）把离心机置于平面桌或平面台上，目测使之平衡，用手轻摇一下离心机，检查离心机是否放置平衡。

（2）打开门盖，将离心管放入转子内，离心管必须成偶数对称放入，且要事先平衡，完毕用手轻轻旋转一下转子体，使离心管架运转灵活。

（3）关上门盖，注意一定要使门盖锁紧，完毕后用手检查门盖是否关紧。

（4）插上电源插座，按下电源开关（电源开关在离心机背面、电源座上方）。

（5）设置转子号、转速、时间：在停止状态下，用户可以设置转子号、转速、时间，此时离心机处于设置状态，停止灯亮、运行灯闪烁；按下启动键离心开始（常用，最高转速为13000r/min，时间最长为20min）。

注意：对应的转子一定要设置在相应的转速范围内，不可超速使用，否则对试管或转子有损坏。

（6）离心机时间倒计时到“0”时，离心机将自动停止，当转子停转后，打开门盖取出离心管，关闭电源开关。

4.微量移液器的使用（1）将微量移液器装上吸头（不同规格的移液器用不同的吸头）。

（2）将微量移液器按钮轻轻压至第一停点。

（3）垂直握持微量移液器，使吸嘴浸入液面下几毫米，千万不要将吸嘴直接插到液体底部。

（4）缓慢、平稳地松开控制按钮，吸上样液；否则液体进入吸嘴太快，会导致液体倒吸入移液器内部，或吸入体积减小。

（5）1s后将吸嘴提离液面。

（6）平稳地把按钮压到第一停点，再把按钮压至第二停点以排出剩余液体。

（7）提起微量移液器，然后按吸头弹射器除去吸头。

5.PCR的使用（1）开机：打开开关，视窗上显示“SELFTEST”。

（2）放入样品管，关紧盖子。

（3）如果要运行已经编好的程序，则直接按“Proceed”，用【箭头】键选择已储存的程序，按“Proceed”，则开始执行程序。

<<生物工程实验技术>>

(4) 如果要输入新的程序, 则在RUN-ENTER菜单上用箭头键选择ENTERPRO-GRAM, 按“Proceed”; 命名新的程序, 最多8个字母, 输入后按“Proceed”确认 (如输入字母、数字); 输入程序步骤: 输入名字后, 确认, 然后输入相关程序。

(5) 输入完成的程序后, 到RUN-ENTER菜单, 选择新程序, 开始运行。

(6) 其他: 用“Pause”可以暂停一个运行的程序, 再按一次继续程序;

用“Stop”或“Cancel”可停止运行的程序。

6. 电泳仪的使用 (1) 首先用导线将电泳槽的两个电极与电泳仪的直流输出端连接, 注意极性不要接反。

(2) 按电源开关, 显示屏出现“欢迎使用DYY-12型电脑三恒多用电泳仪.”等字样后, 同时系统初始化, 蜂鸣4声, 设置常设值。

屏幕转成参数设置状态, 根据工作需要选择稳压稳流方式及电压电流范围。

(3) 确认各参数无误后, 按【启动】键, 启动电泳仪输出程序。

在显示屏状态栏中显示“Start”, 并蜂鸣4声, 提醒操作者电泳仪将输出高电压, 注意安全。

之后逐渐将输出电压加至设置值, 同时在状态栏中显示“Run”, 并有两个不断闪烁的高压符号, 表示端口已有电压输出。

在状态栏最下方, 显示实际的工作时间 (精确到秒)。

(4) 电泳结束, 仪器显示“END”, 并连续蜂鸣提醒。

此时按任一键可止鸣。

7. 高压灭菌锅 (1) 开盖: 转动手轮, 使锅盖离开密封圈, 添加蒸馏水至刚没于板上。

(2) 通电: 将控制面板上电源开关按至“ON”处, 若水位低 (LOW) 则红灯亮。

(3) 堆放物品: 需包扎的灭菌物品, 体积以不超过200mm×100mm×100mm为宜, 各包装之间留有间隙, 堆放在金属框内, 这样有利于蒸汽的穿透, 提高灭菌效果。

灭菌时间为121℃, 20min; 如为液体, 液体必须装在可耐高温的玻璃器皿中, 且不可装满, 2/3即可, 121℃, 18~20min。

(4) 密封高压锅: 推横梁入立柱内, 旋转手轮, 使锅盖下压, 充分压紧。

(5) 设定时间和温度, 开始灭菌。

⋮

<<生物工程实验技术>>

版权说明

本站所提供下载的PDF图书仅提供预览和简介，请支持正版图书。

更多资源请访问:<http://www.tushu007.com>