



# 生物化学实验

## 生物化学实验绪论

### 1.1 生物化学实验简介

北京大学 王青松 胡晓倩

# 生物化学实验简介

- 生物化学实验的教学内容围绕生物大分子的分离纯化技术、蛋白质检测技术和酶动力学实验技术等核心概念展开，涉及到蛋白质的提取、分离纯化、层析、电泳、定量测定、免疫检测及酶促动力学测定等实验技术。
- 学习使用常用的生化实验仪器，如离心机、可调式移液器、紫外-可见分光光度计、酶标仪、蛋白质电泳及半干转印仪、蛋白-核酸检测仪及记录仪等。
- 课程内容设置既注重基础训练又具有综合性，着重培养学生的动手能力及独立分析/解决问题的能力，使学生通过课程的学习巩固生化实验的理论知识，掌握生物化学的基本实验技术和仪器的使用操作。

# 实验目的

掌握生物化学常用实验方法的原理



加深对生物化学理论知识的理解



熟悉掌握生物化学实验常用仪器



培养学生的实验动手能力和严谨求实的科学态度



注重基本实验技能的训练，为本科生进入科研实验室打下良好的基础



# 3大核心实验概念

## 生物大分子 分离纯化技术

- 生物大分子分离  
纯化基本技术
- 层析技术
- 电泳技术

## 蛋白质检测技术

- 蛋白质定量测定技术
- 蛋白质免疫检测技术

## 酶动力学实验技术

- 酶活力测定
- 米氏常数 $K_m$ 及最大反应  
速度 $V_{max}$ 测定

# 生物大分子分离纯化技术

- **生物大分子分离纯化基本技术**

- 了解蛋白质的各种物理化学性质，学习蛋白质提取制备中的等电点沉淀、有机试剂沉淀、盐析及透析等实验方法，掌握蛋白质提取制备中各种生化基本实验技术，学会使用离心机、可调式移液器、电子分析天平及磁力搅拌器等常用生化实验仪器。

- **层析技术**

- 学习凝胶过滤、离子交换、亲和层析等层析技术的原理及方法，掌握层析技术中装柱、上样、洗脱等基本操作方法，学会使用核酸-蛋白检测仪及记录仪。

- **电泳技术**

- 学习蛋白质聚丙烯酰胺凝胶电泳的原理及方法，掌握SDS-PAGE样品处理、配胶、上样、电泳及染色等操作方法，学会使用金属浴、垂直板电泳槽及电泳仪、脱色摇床等仪器。

# 蛋白质定量测定技术

- 学习多种蛋白质、核酸和糖的定量测定的原理及方法
- 掌握Bradford法结合微孔板反应法定量测定蛋白质浓度的实验操作
- 学会使用紫外-可见分光光度计、酶标仪
- 学会制作标准曲线，计算未知样品的蛋白质浓度

# 蛋白质免疫检测技术

- 学习蛋白质免疫印迹Western blot的原理
- 掌握利用SDS-PAGE电泳和免疫学检测相结合的Western blot实验技术  
对蛋白质进行特异性检测的实验方法
- 掌握蛋白质免疫印迹中蛋白转印、封闭、抗原抗体结合及显色等实验操作
- 学会使用蛋白质转印仪及凝胶脱色摇床等仪器

# 酶动力学实验技术

- 学习酶学理论知识及酶活力、比活力的概念
- 学习酶学研究中的常用实验方法
- 掌握分光光度法测定酶活力、终止法测定米氏常数 $K_m$ 值及最大反应速度 $V_{max}$ 的实验方法
- 学会使用双光束紫外-可见分光光度计，熟练运用可调式移液器准确移取微量溶液 ( $\leq 10 \mu\text{L}$ )
- 学会酶活力、总活力及比活力等的计算方法
- 掌握作图法计算 $K_m$ 与 $V_{max}$ 值的方法



# 生物化学实验主要内容

谷胱甘肽转硫酶  
GST的分离纯化及  
酶动力学综合实验

核心概念

绿色荧光蛋白  
GFP的表达、纯化  
及鉴定综合实验