

手动生化实验报告

一、实验器材及试剂

1、实验器材

名称	厂家	型号
电子天平	SCALE	ELECTRonic
组织研磨仪	Servicebio	KZ-II
台式高速冷冻离心机	Haier	LX-165T2R
纯水仪	青岛富勒姆科技	FBZ2001-UP-P
漩涡振荡器	Servicebio	MX-F
超低温冰箱	海尔	DW-86L338J
隔热式电热恒温培养箱	恒宇	HGPF-50
全波长酶标仪	赛默飞	Varioskan ALF

2、主要实验耗材

耗材	厂家	货号
1000 μ L 移液器	大龙	KE0037273
200 μ L 移液器	大龙	YE3K030591
50 μ L 移液器	大龙	DS35110
10 μ L 移液器	大龙	KE0012951
300 μ L 多道移液器	大龙	KA006318



三、实验方法

1. 样本准备

A. 血清

全血样品于室温放置 1 小时或 2-8°C 过夜后于 2-8°C，1000×g 离心 20 分钟，取上清即可检测。上清可存放于 -20°C，避免反复冻融。

B. 血浆

抗凝剂推荐使用 EDTA-Na₂，样品采集后 30 分钟内于 2-8°C，1000×g 离心 15 分钟，取上清即可检测。-20°C 存放，避免反复冻融。。

C. 细胞上清

收集液体后于 2-8°C，1000×g 离心 20 分钟，除去杂质及细胞碎片，取上清检测。-20°C 存放，避免反复冻融。

D. 细胞裂解样本

贴壁细胞用冷的 PBS 轻轻清洗，然后用胰蛋白酶消化，1000×g 离心 5 分钟后收集细胞；悬浮细胞可直接离心收集。收集的细胞用冷的 PBS 洗涤 3 次。每 10⁶ 个细胞中加入 150-200 μL PBS 重悬(推荐在 PBS 中加入蛋白酶抑制剂;若含量很低可减少 PBS 的体积)并通过反复冻融或超声使细胞破碎。将提取液于 2-8°C，1500×g 离心 10 分钟，取上清检测。-20°C 存放，避免反复冻融。

E. 组织裂解样本

用预冷的 PBS (0.01M, pH=7.4) 冲洗组织，去除残留血液，称重后将组织剪碎。将剪碎的组织与对应体积的 PBS(一般按 1:9 的重量体积比，比如 1 g 的组织样品对应 9 mL 的 PBS，具体体积可根据实验需要适当调整，并做好记录。推荐在 PBS 中加入蛋白酶抑制剂)加入玻璃匀浆器中，在冰上充分研磨。为了进一步裂解组织细胞，可以对匀浆液进行反复冻融或超声破碎。最后将匀浆液于 2-8°C，5000×g 离心 5-10



分钟，取上清检测。-20°C存放，避免反复冻融。

F. 尿液

收集尿液后，1000x g 离心 20min，取上清，-20°C或者-80°C存放，避免反复冻融。

G. 母乳

收集样本后，10000x g 离心 15min，取澄清部分，浑浊液再次离心取澄清，收集澄清部分，-20°C存放，避免反复冻融。

2. 操作步骤

- 1) 样本接收：血清、血浆、组织、细胞。
- 2) 以实际试剂盒说明书为准。