

昔



高等医药院校教材

供基础、临床、口腔、预防医学类专业用

实验基础医学

Shiyan Jichu Yixue

◎ 主编 刘利兵 尹维宏



第四军医大学出版社

实验基础医学

第2版

主 编 刘利兵 尹维宏

编 者 (按姓氏笔画排序)

丁天兵 王跃民 王多宁 王春梅

曲 萍 刘芳娥 刘 莉 刘新平

杜克莘 李志超 沈 楠 张 伟

张轩萍 陈健康 杨 杰 胡还忠

胡慧香 黄小军 黄景辉 曹永新

康杰芳 董晓建 舒 青 谢文利

裴建明 颜 真

第四军医大学出版社·西安

图书在版编目(CIP)数据

实验基础医学/刘利兵,尹维宏主编. —西安:第四军医大学出版社,2007.6
ISBN 978-7-81086-331-5

I. 实… II. ①刘…②尹… III. 基础医学-实验-医学院校-教材 IV. R3-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 084184 号

实验基础医学

主 编 刘利兵 尹维宏
责任编辑 徐文丽 马元怡
出版发行 第四军医大学出版社
地 址 西安市长乐西路 17 号(邮编:710032)
电 话 029-84776765
传 真 029-84776764
网 址 <http://press.fmmu.sn.cn>
印 刷 西安建业印务有限公司
版 次 2007 年 6 月第 2 版 2007 年 6 月第 2 次印刷
开 本 787×1092 1/16
印 张 24.25
字 数 520 千字
书 号 ISBN 978-7-81086-331-5/R·276
定 价 43.00 元

(版权所有 盗版必究)

实验基础医学编写人员

刘利兵(第四军医大学)
尹维宏(第四军医大学)
董晓建(第四军医大学)
陈健康(第四军医大学)
刘芳娥(第四军医大学)
曲 萍(第四军医大学)
曹永新(第四军医大学)
黄小军(第四军医大学)
黄景辉(第四军医大学)
裴建明(第四军医大学)
王跃民(第四军医大学)
刘 莉(第四军医大学)
李志超(第四军医大学)
舒 青(第四军医大学)
颜 真(第四军医大学)
王春梅(第四军医大学)
康杰芳(陕西师范大学)
杜克莘(西安交通大学)
杨 杰(延安大学)
沈 楠(吉林医药大学)
胡慧香(山西省职工医学院)
胡还忠(武汉同济医科大学)
王多宁(西安医学院)
刘新平(第四军医大学)
张 伟(第四军医大学)
张轩萍(山西医科大学)
谢文利(天津武警医学院)
丁天兵(第四军医大学)

再版前言

《实验基础医学》改变了以往实验课依附于理论课的地位，使之成为基础医学中一门新发展的独立的课程。本书打破了学科间的壁垒，有机地融合了基础医学的实验内容，不仅包含基本的基础医学实验理论和技术，还有医学发展前沿的新技术。本书分为三部分：第一部分是理论篇，介绍医学科学研究的基本知识和方法，主要内容有医学科学研究的选题和设计，文献综述撰写，学生探索性实验选题和设计的基本知识。从而激发学生的学习主动性，使学员熟悉科学实验研究的基本程序，培养学生的自学创新能力；第二部分是技术篇，介绍基础医学常用的基本技能，动物实验基本操作方法和实验常用仪器的使用和维护。从而强化学生基本技能的培养，同时提供一些具有实用性和进展的内容，拓宽学生的知识面。第三部分是实验篇，包括综合实验及模拟实验，本次再版又增添了一些基础实验。使本书的适用范围又有所扩大。大多数综合实验都有机地融合了多学科的知识和技术，内容复杂，不仅机能学科相互融合，而且机能和形态相互融合。从而培养学生分析问题、解决问题的能力，提高学生的实践能力和综合素质。

本书具有综合性、创新性、实用性的特色，可作为五年制、七年制医学本科生创新教育的重要教材之一，亦可作为研究生和专科生的参考教材。

目 录

第一篇 理论篇

第一章 绪论	(3)
第一节 实验基础医学概述	(3)
第二节 实验基础医学的教学内容及要求	(5)
第二章 实验研究的程序及人员条件	(7)
第一节 医学实验的程序	(7)
第二节 科学实验工作者应具备的基本条件	(8)
第三章 文献综述及文献检索	(11)
第一节 文献综述	(11)
第二节 文献检索	(14)
第四章 科学研究的选题和设计	(17)
第一节 科研选题	(17)
第二节 实验设计的基本知识	(19)
第五章 数据的记录与处理	(22)
第一节 实验研究的记录	(22)
第二节 实验数据的处理	(23)
第六章 实验报告与论文的撰写	(30)
第一节 实验报告的撰写	(30)
第二节 实验论文的撰写	(31)
第七章 医学实验的数学模型	(34)
第一节 数学模型简介	(34)
第二节 医学的数学化	(35)
第三节 建立数学模型的原则、方法和一般步骤	(35)
第四节 医学实验中数学建模举例	(37)

第二篇 技术篇

第八章 医学实验常用仪器	(43)
第一节 生理记录仪	(43)

第二节	生物信号采集与处理系统	(46)
第三节	换能器	(52)
第四节	电刺激仪器及其附属设备	(53)
第五节	752 C 型紫外可见分光光度计	(55)
第六节	电动离心机	(59)
第七节	电泳仪	(60)
第八节	酶标仪	(60)
第九节	酶标洗板机	(62)
第十节	显微镜	(63)
第九章	医学实验动物及其操作技术	(67)
第一节	医学实验动物概述	(67)
第二节	实验动物的安全防护要求	(69)
第三节	常见人类疾病动物模型	(71)
第四节	常用医学实验动物及选择原则	(74)
第五节	动物实验前的准备	(76)
第六节	实验动物的给药途径及取血方法	(82)
第七节	实验动物的外科技术及急救	(87)
第八节	实验动物的处死及尸体处理	(94)
第九节	动物离体标本制备	(96)
第十节	动物血压及心电图的测定	(99)
第十章	膜片钳技术	(109)
第一节	膜片钳技术的基本原理和方法	(109)
第二节	膜片钳的多种记录形式	(111)
第三节	膜片钳实验操作	(112)
第四节	膜片钳离子单通道记录	(115)
第五节	膜片钳全细胞记录	(118)
第十一章	组织细胞培养技术	(120)
第一节	细胞培养的基本技术	(120)
第二节	细胞培养的操作步骤	(123)
第三节	培养细胞的常规观察	(125)
第十二章	染色体分析技术	(128)
第一节	染色体制备	(129)
第二节	染色体 G 显带技术	(131)
第三节	染色体 C 显带技术	(132)
第四节	姐妹染色单体分化染色	(133)
第五节	小鼠骨髓的染色体制备	(134)
第六节	小鼠骨髓嗜多染红细胞微核的测定法	(135)
第十三章	分子生物学技术	(137)

第一节	核酸探针标记及原位杂交	(137)
第二节	多聚酶链式反应技术(PCR 技术)	(142)
第三节	基因克隆技术	(147)
第四节	基因芯片技术	(151)
第五节	蛋白质组学的相关技术	(157)
第十四章	免疫学技术	(169)
第一节	免疫标记技术	(169)
第二节	单克隆抗体技术	(170)
第三节	细胞免疫检测技术	(173)
第十五章	细菌学实验基本技术	(175)
第一节	细菌形态检查法	(175)
第二节	细菌培养检测技术	(177)
第十六章	组织学技术	(181)
第一节	制片技术	(181)
第二节	免疫组织化学技术	(193)
第十七章	流式细胞术及其应用	(201)
第一节	流式细胞术的基本理论	(201)
第二节	流式细胞术的样品制备	(206)
第三节	流式细胞术的应用	(208)
第十八章	激光扫描共聚焦显微镜技术	(213)
第一节	激光扫描共聚焦显微镜技术原理	(213)
第二节	激光扫描共聚焦显微镜的应用及荧光探针	(215)
第三节	共聚焦荧光探针技术	(219)
第四节	共聚焦荧光探针染色方法	(220)

第三篇 实验篇

第十九章	模拟实验	(225)
第二十章	机能学实验	(228)
第一节	生理学实验	(228)
一、蛙坐骨神经双相、单相动作电位的引导		(228)
二、蛙坐骨神经兴奋传导速度和不应期测定		(230)
三、电刺激的强度和频率与骨骼肌收缩反应的关系		(231)
四、负荷与骨骼肌收缩的关系		(233)
五、蛙心活动起搏点的观察		(235)
六、观察蟾蜍心脏的期前收缩和代偿间歇		(237)
七、观察不同因素对家兔心血管系统活动的影响		(238)
八、观察不同因素对家兔膈神经电活动和膈肌张力变化的影响		(240)

九、去大脑僵直	(243)
第二节 药理学实验	(245)
一、药物半数致死量(LD ₅₀)的测定	(245)
二、药物对大白鼠肛尾肌的作用(PA ₂ 值的测定)	(248)
三、水杨酸钠生物半衰期的测定	(249)
四、磺胺类药物的药代动力学参数测定	(251)
五、有机磷脂类药物中毒与解救	(252)
六、药物的镇痛作用	(253)
七、巴比妥类药物的抗惊厥作用	(255)
八、糖皮质激素(地塞米松)对毛细血管通透性的影响	(256)
第二十一章 形态学实验	(259)
第一节 正常细胞的形态观察	(259)
第二节 肿瘤细胞的形态观察	(260)
第三节 正常组织的形态观察	(261)
第四节 肿瘤组织的形态学观察	(261)
第二十二章 分子生物学实验	(263)
第一节 蛋白质提取	(263)
第二节 蛋白质电泳	(265)
第三节 PCR 实验	(269)
第四节 DNA 的体外重组技术	(271)
第二十三章 微生物及免疫学实验	(283)
第一节 双向电泳扩散	(283)
第二节 酶联免疫吸附试验	(284)
第三节 细菌的生化鉴定法	(286)
第四节 细菌血清学鉴定法	(290)
第二十四章 医学化学和药学实验	(296)
第一节 医学化学实验	(296)
第二节 药学实验	(307)
第二十五章 实验动物行为学实验方法	(311)
第一节 Morris 水迷宫实验	(311)
第二节 Y-迷宫实验	(312)
第三节 穿梭箱实验	(314)
第四节 避暗实验	(315)
第五节 旷场实验	(316)
第六节 爬杆回避实验	(317)
第七节 跳台实验	(318)
第八节 耐力实验和力竭实验	(319)
第二十六章 综合实验	(321)

第一节	影响心脏活动的化学因素	(321)
第二节	豚鼠离体心肌组织心房肌细胞内动作电位及收缩力的同步记录	(323)
第三节	哺乳动物血压的调节	(324)
第四节	拟肾上腺素药与抗肾上腺素药对大鼠血压的影响	(326)
第五节	高钾血症	(328)
第六节	家兔膈肌电活动的记录	(329)
第七节	心律失常模型的建立与药物作用	(330)
第八节	磺胺嘧啶钠的吸收与分布	(331)
第九节	家兔失血性休克抢救不当致肺水肿的实验观察	(332)
第十节	缺氧模型的复制及其影响因素的探讨	(334)
第十一节	家兔失血性休克的微循环观察及解救	(336)
第十二节	实验性胃溃疡模型的建立与防治	(338)
第十三节	消化道平滑肌的生理特性及其影响因素	(340)
第十四节	幽门螺杆菌小鼠模型的建立及检测	(342)
第十五节	泌尿功能综合实验	(344)
第十六节	免疫系统实验	(348)
第十七节	抗生素对小鼠体内感染的保护性实验	(352)
第十八节	家兔尿生成的影响因素及利尿药的作用	(353)
第十九节	发热模型复制及其机制探讨	(355)
附录		(359)
附录一	常用生理盐溶液的配制	(359)
(一)	常用生理盐溶液的配制	(359)
(二)	常用生理盐溶液的用途	(360)
(三)	生理盐溶液配制的注意事项	(361)
(四)	生理盐溶液的离子成分	(361)
附录二	常用缓冲液的配方	(362)
(一)	缓冲液组成成分	(362)
(二)	配制缓冲溶液的注意事项	(362)
(三)	常用缓冲液配制	(362)
附录三	常用酸碱浓度	(367)
(一)	常用酸碱含量	(367)
(二)	酸溶液	(367)
(三)	碱溶液	(367)
(四)	常用酸碱百分比浓度、相对密度和 mol/L 之间的关系	(368)
附录四	常用抗凝剂的配制及用法	(369)
(一)	肝素	(369)
(二)	草酸盐合剂	(369)
(三)	枸橼酸钠	(370)

(四)草酸钾.....	(370)
(五)乙二胺四乙酸二钠盐.....	(370)
参考文献	(371)
中英文名词对照	(374)
(378).....	
(379).....	
(380).....	
(381).....	
(382).....	
(383).....	
(384).....	
(385).....	
(386).....	
(387).....	
(388).....	
(389).....	
(390).....	
(391).....	
(392).....	
(393).....	
(394).....	
(395).....	
(396).....	
(397).....	
(398).....	
(399).....	
(400).....	
(401).....	
(402).....	
(403).....	
(404).....	
(405).....	
(406).....	
(407).....	
(408).....	
(409).....	
(410).....	
(411).....	
(412).....	
(413).....	
(414).....	
(415).....	
(416).....	
(417).....	
(418).....	
(419).....	
(420).....	
(421).....	
(422).....	
(423).....	
(424).....	
(425).....	
(426).....	
(427).....	
(428).....	
(429).....	
(430).....	

第一篇

理论篇

第一章

绪论

医学科学的发展和其他自然学科一样,不能离开科学实验。实验和观察是科学知识的源泉,任何新的科学知识都需要通过无数次的实验,反复多次观察,测量大量的实验数据,才能使人们逐步认识事物的客观规律,并概括上升为科学理论。

第一节 实验基础医学概述

一、实验基础医学的概念及性质

实验基础医学(experimental preclinical medicine)是运用实验仪器、设备和工具等手段,在人为控制条件下研究机体的结构组成,功能代谢,疾病发生、发展过程以及药物和机体相互作用规律和原理的科学,是一门与多个学科密切联系的综合性的基础实验科学。

其研究对象为人体发生、发育、结构和组成;机体的功能与代谢;疾病发生的病因与病变,药物的作用机制等。

其目的是通过实验的方法认识和掌握人体的发育,器官组织的形态结构与功能,疾病发生的原因和病理改变,人类衰老和死亡以及治疗药物的作用及其机制等有关知识。

其主要任务是对研究对象施加一定因素后进行试验与观察,记录其反应与变化;研究正常和疾病过程中的机体功能、代谢和形态结构改变的特征以及阐明疾病的原因、发生发展的过程,从而为认识和掌握机体疾病发生、发展的规律,为诊断和防治疾病,提供必要的理论基础和实验研究依据。

二、实验基础医学的发展趋势

由于人类早期对自然现象认识能力的限制,最初医学只能是玄学的。从公元前几个世纪中国医学即开始了经验医学。我国出现的“神农尝百草”的故事,其研究的方法是根据以往的临床实践或亲身试验,但这种实验方法既费事又危险。在16、17世纪随着科学文化的发展,医学亦在传统的经验医学基础上开展了生物领域的实验,使医学进入了一个实验医学的新历史时期。在16世纪末,安·维萨列斯(Andreas Vesalius)根据其多年对人体解剖学的研究观察,出版了《人体解剖》这一篇巨著;1628年英国医生威廉·哈维(William Harvey)和斯蒂芬·哈尔(Stephen Hale)采用蛙、蛇等动物进行实验研究,证明循环系统是一个密闭的系统。19世纪中叶,法国生理学家克劳德·伯纳德(Claude Bernard, 1813—1878)首先倡导在动物身上复

制人类疾病的模型,用实验的方法来研究疾病发生的原因和条件以及疾病过程中机能、代谢的动态变化。德国诺道夫·布克海姆(Rudolf Buchheim, 1820—1897)建立了第一个药理实验室,写出了第一本药理学教科书,使药理学成为一门独立的学科。奥斯瓦德·史密德伯格(Oswald Schmiedeberg, 1838—1921)继续发展了实验药理学,开始研究药物的作用部位,被称为器官药理学。法国的路易·巴斯德(Louis Pasteur, 1822—1895)和德国的罗伯特·柯霍(Robert Koch, 1843—1910)发现细菌以及发明疫苗开创了实验微生物学。德国的雅各布·施莱登(Jacob Schleiden, 1804—1881)和索多·施旺(Theodor Schwann, 1810—1882)创立细胞学说,鲁道夫·魏尔啸(Rudolph Virchow, 1821—1902)创建细胞病理学。这些学者的实验研究都为实验基础医学研究作出了决定性的贡献。

实验为理论的创立提供依据,理论又为实验提供了指导。两者相辅相成,相互促进,推动了基础医学的发展。随着更多新的医学实验技术与方法在基础医学各学科间的交叉应用和渗透,医学学科也在不断地分化和融合发展,以实验为手段进行基础医学领域研究正逐步形成一门具有相对独立性又与多个学科相互交叉的学科。

三、实验基础医学的研究方法

科学技术的发展为基础医学的研究提供了全新的研究策略和手段。显微镜、组织化学、同位素技术、细胞分离和培养技术的发明与应用将机体的研究从整体、器官水平推向细胞水平;现代分子生物学技术的发展又把人们的研究水平引入到基因领域。例如,用反义寡脱氧核苷酸抑制特异蛋白质基因的表达;利用 cDNA 文库筛选、减数杂交、差异显示等手段检测不同组织细胞、不同发育阶段以及不同生理、病理条件下基因表达的差异。经典的机能实验,常用外科手术切除某个器官的方法研究有关器官的功能,现在已可用“分子外科手术”从动物基因组中敲除某个基因的方法,研究机体发育、机能代谢、行为的遗传改变及某些疾病的发病机理。对于任何一种重要的形态结构与机能代谢活动的理解,都是不同水平研究的综合结果。对机体结构、机能、代谢的研究可以从不同层次着手,如整体水平、器官水平、细胞水平、亚细胞水平和分子水平等。

医学实验所用的动物实验方法,大体上可以分为慢性实验和急性实验两大类。慢性实验所需实验时间长,便于观察研究对象(某一器官或组织)的活动以及它在整体活动中的地位,但不利于分析研究对象本身的特性以及与其他器官之间的相互关系。急性在体实验方法实验时间短,比慢性实验易于控制条件,有利于观察器官间的具体关系,便于分析某一器官活动的过程与特点,但与正常生活情况下的机体活动仍有差别。急性实验又可分为在体(in vivo)与离体(in vitro)两种。离体实验方法是从动物体内取出某一器官(如心脏)或某种组织(如肌肉、神经),置于适宜的人工环境中,使之在数小时或更长的时间内仍能保持功能活动。这种方法有利于排除其他因素的影响,观察某一器官、组织的基本特性,但不一定能完全代表它在正常体内的情况。

四、实验基础医学的教学目的

传统的医学基础实验课教学,多采用以学科为中心的教学模式。这种模式对系统掌握课程知识,培养学生的操作技能有着重要的作用,但是作为理论课教学的附属,实验课多以验证理论为主,其内容大部分陈旧零散,缺乏对学生创造力的启发,学科之间的界限过于明显,限

制了学科知识的交叉融合。近些年来,国内外的一些院校从人才培养目标出发,打破了学科课程间的壁垒,尝试将实验课从原来的课程中独立出来,删减重复实验,减少验证性实验,以器官、系统或问题(疾病)为中心组织教学,使功能课程之间的实验得到有机结合,甚至使形态与功能课程、基础与临床课程之间的内容得到交叉融合,增加了学生的动手能力和动脑机会,培养了学生的操作能力、自学能力、科研思维能力和创新能力。实验基础医学课程的开设就是要加强知识间的系统性,使知识的传授、能力的培养和素质的提高诸方面有机结合,从而培养和造就出适应新世纪医学科学发展所需要的具有创新意识医学高级人才。实验基础医学课程强调“学生为主体,教师为主导”的教与学关系,提倡在教师的指导下,以学生自行设计、自主实验为核心的实验教学方法。力求体现培养学生的主动获取知识的能力、实践能力、创新能力和综合分析解决问题的能力。

第二节 实验基础医学的教学内容及要求

一、教学内容

1. 理论篇 学会撰写文献综述,学会医学文献检索方法;熟悉医学科学研究的基本程序,熟悉实验设计基本原则与方法,了解常用医学仪器设备的基本操作,重点是加强学生自学能力的培养。

2. 技术篇 熟悉基础医学常用的实验技术,了解实验技术的最新进展及动向。

3. 实验篇

(1)模拟实验。是通过模拟与自然现象或过程相似的模型或情景来研究原型的规律而进行的实验。应学会利用模拟实验熟悉和理解实验基本知识和操作。

(2)常规实验。即传统学科的经典实验。通过了解常规实验来熟悉综合实验和探索性实验的操作。

(3)综合实验。是按照一定目的将相关联的多个学科的实验组合成一个教学单元的实验。通过进行综合实验,进一步强化实验操作,掌握实验方法,培养学生观察记录实验结果,收集、整理实验数据的能力,对实验结果进行科学分析、逻辑推理,最后得出恰如其分的结论。重点培养学生提出问题、分析问题与解决问题能力。

(4)探索性实验。是对未知问题或拟定研究的目标进行的一种目的明确,具有新见解或创造性的实验。学生自选题目,查阅文献资料,设计实验方案,可参加论证答辩,进行正式实验,并对结果分析讨论,以小论文形式写出实验报告。目的是激发学生开拓、创新精神,培养学生的综合素质,突出学生创新能力的培养。

教员可根据学生撰写的综述、综合实验成绩、探索性实验设计方案成绩以及探索性实验完成情况来评定学生本门课程的总成绩。

二、学习的目的和要求

1. 掌握医学综合实验的基本理论和基本实验技能,学会本课程常用仪器设备的正确使用和维护。

2. 加强科研能力的培养,学会选题、查阅文献、写综述、科研设计和写出小论文,养成严

谨的科研作风和严密的科研思维方法。激励学员学习、探索和求知的强烈欲望,提高其开拓、创新精神。

3. 重视实验,养成操作认真,观察仔细,记录精确、详实,并能正确分析实验结果,写出规范的实验报告。
4. 提高独立学习、独立工作、分析问题和解决问题的能力,为临床学习、工作打下较好的基础。
5. 注意作风的培养,强化献身医学、吃苦耐劳和团结协作的精神。

三、实验室要求

1. 穿戴整齐。进入实验室必须先穿戴好工作服和帽,必要时还要戴上口罩。除必要的书籍、笔记本和文具外,其他个人物品,不应带入实验室。
2. 保持肃静。不许喧哗或嬉戏,保持良好的实验秩序。
3. 保持整洁。书籍物品放置整齐,不准乱丢污物和随地吐痰,打扫卫生时,应以湿布与拖把分别将实验台面及地面擦抹干净,禁止使用干扫帚扫地。
4. 严格操作。按照实验要求,认真预习,做好准备,积极地计划安排要进行的实验,认真地进行实验操作,严格遵守操作规程,仔细观察,争取又快又准确地完成实验。实验后,认真书写报告。
5. 珍惜动物。实验动物在实验前按组发给,因故需补领时,必须经过指导老师批准。
6. 注意节约。爱护标本、器材。对消耗材料、药品、试剂及水、电、气等,要力求节约。
7. 保证安全,在实验室内,禁止饮食、吸烟、用嘴湿润铅笔和标签。使用危险有毒物品时要按要求操作,注意安全。实验中万一发生意外,应立即报告教员及时处理,切勿隐瞒或自作主张不按规定处理。
8. 爱惜设备。要爱护实验室内的仪器,使用显微镜及其他贵重仪器,要按要求操作。初次使用设备或使用中出现故障,应请教教员。损坏或丢失物品、仪器应酌情赔偿。未经许可,不得擅自搬动示教器材或其他室内设施,不得将实验室内任何物品带出室外,严禁将菌种带出室外,否则将作严肃处理。
9. 爱护公物。注意爱护桌、椅、门、窗等公物,严禁在教室内墙壁、桌椅等处乱刻乱画。
10. 完毕整理。应清点用物,将实验器材放回原处。清理桌面,搞好室内清洁,保持室内的整齐。离开实验室前,关好门、窗、水、电、煤气,脱下工作服,并将手洗净。

(刘利兵 尹维宏)

思考题

1. 为什么要开设实验基础医学?
2. 实验基础医学的内容是什么?
3. 你对本门课程有何打算和想法?