

# 基础医学 实验教程

● 主编 李凡 刘永茂



高等教育出版社

# 基础医学实验教程

主 编 李 凡 刘永茂

副主编 (按姓氏笔划)

李淑红 赵 佳 费 瑞 常雅萍

编著者 (按姓氏笔划)

于春雷 王 丽 王 放 王忠山 尹艳慧

左文静 史红艳 孙延波 台桂香 朱玉琢

刘 冰 刘 利 刘永茂 李 一 李 凡

李 哲 李菁华 李淑红 李 慧 关显智

辛暨丽 邹冬辉 柳忠辉 庞慧民 赵 佳

赵 慧 费 瑞 黄红兰 常雅萍 崔黎明

温得中 赫荣华



高等教育出版社

**图书在版编目(CIP)数据**

基础医学实验教程/李凡,刘永茂主编. —北京:高等教育出版社,2002.9

ISBN 7-04-011375-9

I. 基… II. ①李… ②刘… III. 基础医学-实验-高等学校-教材 IV. R3-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 065363 号

责任编辑 安 琪  
封面设计 王 雅  
责任绘图 朱 静  
版式设计 江 辉  
责任印制 陈伟光

**基础医学实验教程**

李 凡 刘永茂 主编

出版发行 高等教育出版社  
社 址 北京市东城区沙滩后街 55 号  
邮政编码 100009  
传 真 010-64014048

购书热线 010-64054588  
免费咨询 800-810-0598  
网 址 <http://www.hep.edu.cn>  
<http://www.hep.com.cn>

经 销 新华书店北京发行所  
印 刷 北京民族印刷厂

开 本 850×1168 1/16  
印 张 25  
字 数 600 000  
插 页 2

版 次 2002 年 9 月第 1 版  
印 次 2002 年 9 月第 1 次印刷  
定 价 36.00 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

**版权所有 侵权必究**

# 前 言

基础医学实验教程是由细胞生物学、遗传学、免疫学、医学微生物学和人体寄生虫学5个专业的教师联合编写,经高等教育出版社出版发行的一本综合性实验技能教材。本教程的立意是在打破专业教研室和实验室的界限,组成综合性基础教学实验中心的前提下形成的,顺应了实验教学体系改革不断深入的形势。

本教程吸取了国内外有关教材的精华,结合基础医学改革的实际,在保证基本理论、基本技术和基本知识的前提下,充分吸收各学科最新技术和经典实验,尽可能将各专业实验内容融会贯通,有机结合,建立了一些综合性的系统实验。目的在于启发学生思维和创新意识,所以删除了专业间的重复,力求简明实用为宗旨,使其既适合各专业、各层次的学生实验及教学需求,又为研究生和青年教师的科研工作提供一些常用的实验方法。具有内容丰富和使用面广的特点。

在篇章结构上,力求实验内容的完整性和系统性。本书分为细胞学技术、免疫检测技术、医学遗传学技术、分子生物学技术、细菌分析技术、其他原核微生物的微生物学检查、真菌学、病毒学、人体寄生虫学实验技术等共10篇。

编写这部综合性实验教程是我们多年教学改革的愿望和新尝试,但由于时间仓促和编写能力有限,书中难免有不妥与疏漏之处,恳请同行指正。

编 者

2002年6月

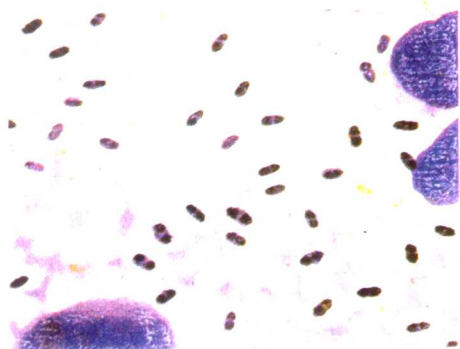




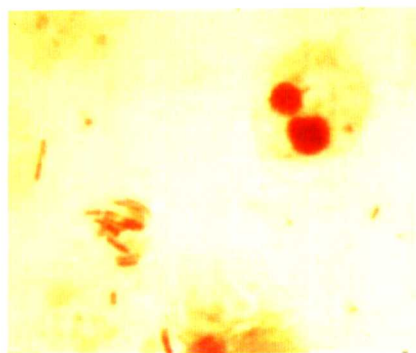
彩图1 葡萄球菌(革兰染色)



彩图2 肺炎链球菌(革兰染色)



彩图3 肺炎链球菌(革兰染色)



彩图4 大肠埃希菌



彩图5 霍乱弧菌



彩图6 霍乱弧菌(革兰染色)



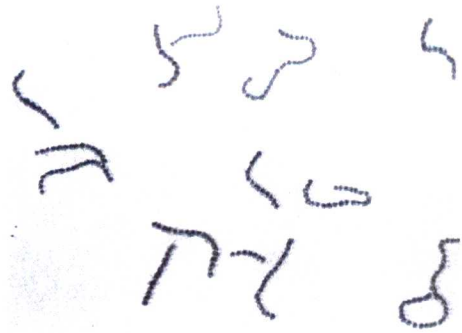
彩图7 产气荚膜梭菌



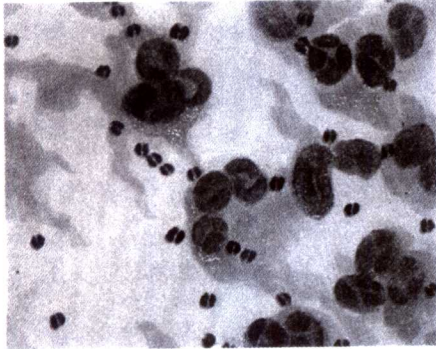
彩图8 鞭毛



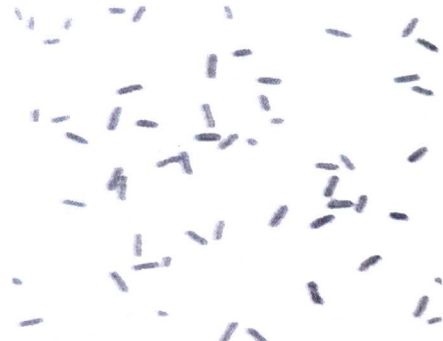
彩图 9 破伤风梭菌



彩图 10 链球菌(革兰染色)



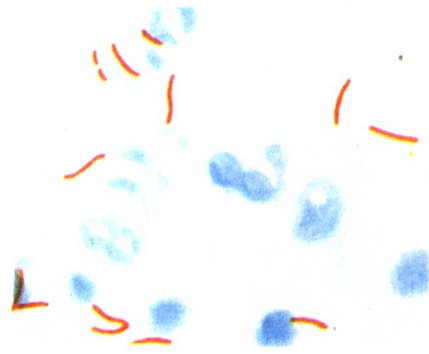
彩图 11 脑膜炎奈瑟菌



彩图 12 痢疾志贺菌(革兰染色)



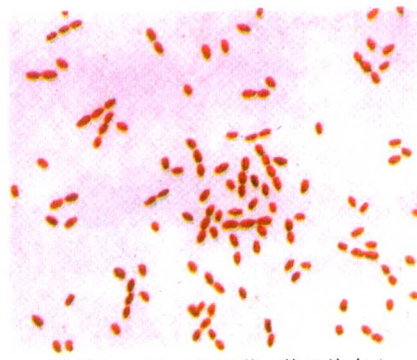
彩图 13 白喉棒状杆菌(奈瑟染色)



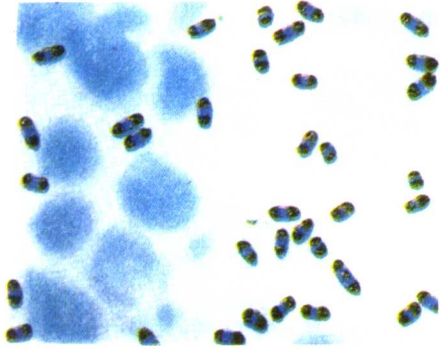
彩图 14 结核分枝杆菌(抗酸染色)  
(痰涂片)



彩图 15 麻风分枝杆菌(抗酸染色)  
(皮肤病灶涂片)



彩图 16 羊布鲁杆菌(革兰染色)



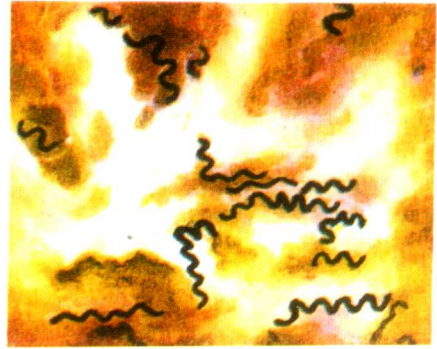
彩图 17 鼠疫耶尔森菌(美兰染色)



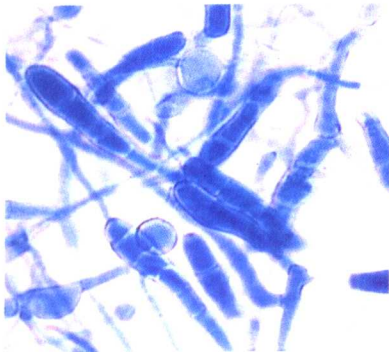
彩图 18 炭疽芽孢杆菌(革兰染色)



彩图 19 钩端螺旋体



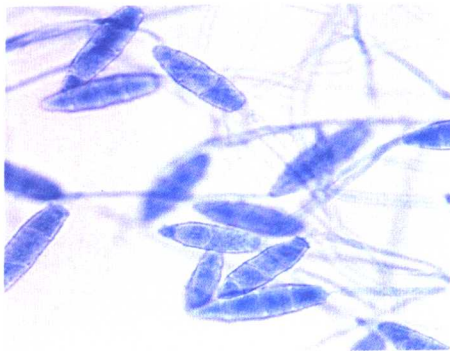
彩图 20 梅毒螺旋体



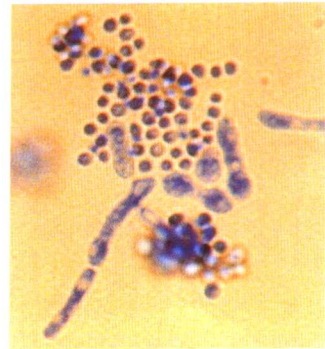
彩图 21 *E. floccosum*



彩图 22 *M. canis*



彩图 23 *M. gypseum*



彩图 24 *T. mentagrophytes*



館存

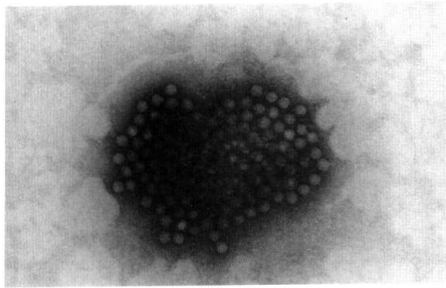


图 1 肠道病毒

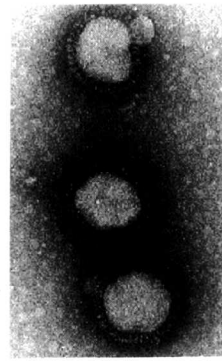


图 2 甲型流感病毒

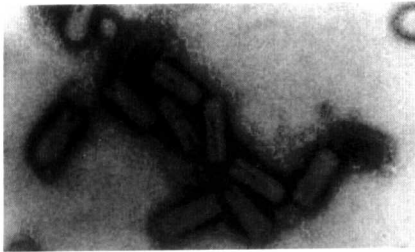


图 3 狂犬病毒

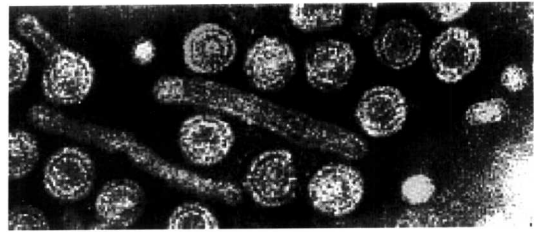


图 4 乙型肝炎病毒

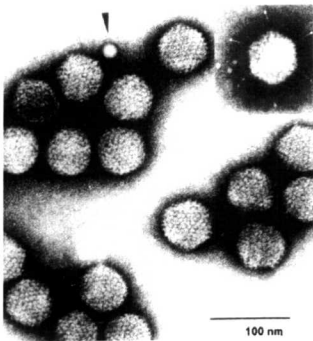


图 5 腺病毒

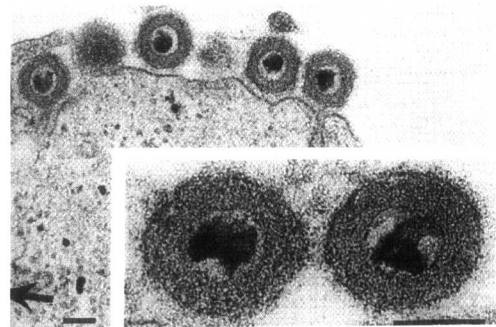


图 6 人类疱疹病毒 6 型

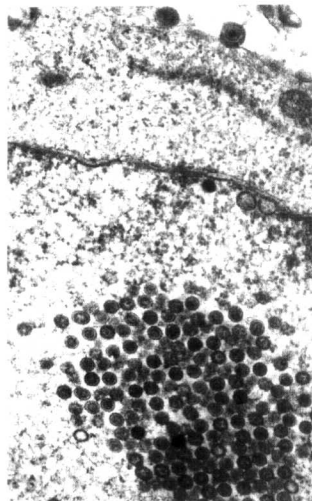


图 7 水痘带状疱疹病毒



# 目 录

## 1 细胞学技术

1.1 显微镜 .....	(1)	细胞形态和结构 .....	(34)
1.1.1 光学显微镜 .....	(1)	1.2.1.2 细胞器的显微和 超微结构 .....	(35)
1.1.1.1 普通光学显微镜 .....	(1)	1.2.1.3 细胞中微丝的染色及 观察 .....	(37)
1.1.1.2 相差显微镜 .....	(7)	1.2.1.4 细胞组分的分级分离 .....	(39)
1.1.1.3 暗视野显微镜 .....	(10)	1.2.1.5 细胞群体中各周期时 相百分比的测定 .....	(42)
1.1.1.4 荧光显微镜 .....	(12)	1.2.2 细胞化学分析 .....	(43)
1.1.1.5 倒置显微镜 .....	(15)	1.2.2.1 细胞内蛋白质及 核酸成分的测定 .....	(43)
1.1.1.6 体视显微镜 .....	(15)	1.2.2.2 细胞内酸性磷酸酶和 过氧化物酶的测定 .....	(45)
1.1.1.7 万能研究用显微镜 .....	(16)	1.2.3 细胞的生命活动 .....	(48)
1.1.2 电子显微镜 .....	(16)	1.2.3.1 观察细胞的生理活动 .....	(48)
1.1.2.1 电镜的基本原理 .....	(16)	1.2.3.2 人类 ABO 血型 的测定 .....	(49)
1.1.2.2 电镜的基本构造 .....	(17)	1.2.3.3 细胞的活体染色 .....	(50)
1.1.2.3 透射电镜的标本制备及 观察 .....	(17)	1.2.3.4 同种和异种细胞融合 .....	(53)
1.1.2.4 扫描电镜的标本制备及 观察 .....	(19)	1.2.3.5 动物细胞的原代培养 和细胞计数 .....	(55)
1.1.2.5 其他电镜 .....	(20)	1.2.3.6 动物和植物细胞的 有丝分裂 .....	(58)
1.1.2.6 电镜的制备技术 .....	(20)	1.2.3.7 动物细胞的减数分裂 .....	(60)
1.1.2.7 电子探针显微镜分析 .....	(21)	1.2.3.8 TUNEL 法检测细胞 凋亡 .....	(62)
1.1.3 显微镜的应用 .....	(22)	参考文献 .....	(69)
1.1.3.1 细胞显微摄影 .....	(22)		
1.1.3.2 血液涂片及显微测量 .....	(28)		
1.1.3.3 细胞显微注射 .....	(30)		
1.1.3.4 放射自显影术 .....	(34)		
1.2 细胞结构观察和成分分析 .....	(34)		
1.2.1 细胞的形态结构 .....	(34)		
1.2.1.1 光学显微镜下的			

## 2 免疫学检测技术

2.1 细胞免疫检测技术 .....	(70)	2.1.2 T、B 淋巴细胞的分离 ——尼龙毛柱法 .....	(72)
2.1.1 人外周血单个核细胞分离 ——Ficoll 分层离心法 .....	(70)	2.1.3 小鼠腹腔巨噬细胞分离 .....	(73)

2.1.4 T淋巴细胞亚群检测 ——微量细胞毒法····· (74)	2.2.5 干扰素检测····· (96)
2.1.5 E玫瑰花环试验····· (74)	2.2.6 趋化因子检测····· (98)
2.1.6 B细胞膜免疫球蛋白检测····· (75)	2.2.7 血管内皮细胞生长因子检测·· (99)
2.1.7 脾细胞介导的SRBC溶血分光 光度计定量测定法(QHS)····· (76)	2.2.8 转化生长因子 $\beta$ 检测····· (99)
2.1.8 小鼠骨髓细胞自发增殖 活性测定····· (76)	<b>2.3 抗体制备技术</b> ····· (100)
2.1.9 小鼠胸腺细胞自发增殖 活性测定····· (77)	2.3.1 免疫血清制备····· (100)
2.1.10 小鼠脾细胞自发增殖 活性测定····· (78)	2.3.2 动物的选择····· (100)
2.1.11 T淋巴细胞转化试验····· (78)	2.3.3 免疫原····· (101)
2.1.11.1 $^3\text{H}$ -TdR掺入法····· (78)	2.3.4 佐剂····· (101)
2.1.11.2 MTT比色法····· (79)	2.3.5 免疫途径····· (102)
2.1.11.3 微量全血法····· (79)	2.3.6 免疫血清效价的测定····· (102)
2.1.12 B淋巴细胞转化试验····· (80)	2.3.7 采血及分离血清····· (102)
2.1.13 巨噬细胞吞噬功能测定····· (80)	2.3.8 免疫血清的保存····· (103)
2.1.13.1 小鼠腹腔巨噬细胞 吞噬鸡红细胞····· (80)	2.3.9 兔抗人血清白蛋白 多克隆抗体的制备····· (103)
2.1.13.2 小鼠腹腔巨噬细胞 吞噬中性红测定····· (81)	2.3.10 抗体的纯化····· (104)
2.1.14 细胞介导的细胞毒技术····· (82)	2.3.10.1 硫酸铵盐析法····· (104)
2.1.14.1 抗体依赖性细胞介导 细胞毒试验····· (82)	2.3.10.2 DEAE-纤维素层 析法····· (105)
2.1.14.2 NK细胞介导的 细胞毒试验····· (83)	2.3.11 单克隆抗体制备····· (106)
2.1.14.3 补体依赖性细胞毒实验 ——小鼠脾及胸腺 T细胞百分率测定····· (86)	2.3.12 基因工程抗体····· (109)
2.1.14.4 小鼠细胞毒T细胞(CTL) 活性测定····· (87)	<b>2.4 抗原抗体检测技术</b> ····· (110)
2.1.15 LAK杀伤活性检测····· (88)	2.4.1 直接凝集····· (110)
<b>2.2 细胞因子检测技术</b> ····· (89)	2.4.1.1 玻片凝集——ABO血型 鉴定····· (110)
2.2.1 白细胞介素1的诱生及检测·· (91)	2.4.1.2 试管凝集····· (111)
2.2.2 白细胞介素2检测····· (92)	2.4.2 间接凝集——抗链球菌溶血 素O(ASO)抗体的检测····· (114)
2.2.2.1 依赖细胞株增殖 测定法····· (92)	2.4.3 协同凝集····· (115)
2.2.2.2 鼠脾T淋巴细胞增殖 分析法····· (93)	2.4.4 双向免疫扩散····· (116)
2.2.3 肿瘤坏死因子测定····· (94)	2.4.5 单向免疫扩散····· (118)
2.2.4 集落刺激因子检测····· (95)	2.4.6 对流免疫电泳····· (119)
	2.4.7 火箭电泳····· (121)
	2.4.8 免疫电泳····· (122)
	2.4.9 免疫印记检测嗜酸性粒细胞 白血病细胞(Eol-1)bcl-2 蛋白的表达····· (123)
	2.4.10 免疫沉淀法····· (128)
	2.4.11 补体依赖细胞毒试验····· (130)
	2.4.12 溶血反应——血清总补体含量 的测定(CH <sub>50</sub> )····· (131)

<b>2.5 免疫标记技术</b> .....	(133)	<b>2.7.3 亲合组织化学技术</b> .....	(148)
2.5.1 免疫荧光技术 .....	(133)	2.7.3.1 生物素-抗生物素免疫细胞	
2.5.1.1 间接法——T细胞亚群		组织化学染色技术 .....	(148)
检测 .....	(133)	2.7.3.2 葡萄球菌 A 蛋白	
2.5.2 免疫酶技术 .....	(135)	(SPA)法 .....	(149)
2.5.2.1 夹心法 ELISA		2.7.3.3 凝集素法 .....	(149)
——检测 sIL-2R .....	(135)	<b>2.7.4 免疫金银细胞组织</b>	
2.5.2.2 ELISA 间接法——单抗隆		化学技术 .....	(150)
抗体筛选 .....	(136)	2.7.4.1 免疫金法(IGS) .....	(150)
2.5.2.3 免疫酶染色——IL-2 受		2.7.4.2 免疫银法(IGSS) .....	(150)
体阳性细胞检测 .....	(137)	<b>2.7.5 免疫胶体铁细胞组织化学</b>	
<b>2.6 放射免疫分析</b> .....	(138)	技术 .....	(151)
2.6.1 放射性同位素标记抗原 .....	(138)	<b>2.8 超敏反应检测技术</b> .....	(151)
2.6.2 放射免疫分析技术 .....	(139)	2.8.1 血清总 IgE 测定 .....	(151)
2.6.3 免疫放射测定 .....	(141)	2.8.1.1 反向间接血凝法测定人	
<b>2.7 免疫组织化学技术</b> .....	(141)	血清总 IgE .....	(151)
2.7.1 常用的免疫组化技术 .....	(143)	2.8.1.2 ELISA 双抗体夹心法测定人	
2.7.1.1 免疫酶组织化学		血清总 IgE .....	(152)
技术 .....	(143)	2.8.2 特异性 IgE 的测定 .....	(154)
2.7.1.2 胶质细胞酸性蛋白(GFAP)		2.8.3 过敏性皮肤试验 .....	(155)
的免疫组化染色		2.8.4 免疫复合物测定 .....	(156)
分析 .....	(145)	2.8.4.1 聚乙烯醇沉淀试验 .....	(156)
2.7.2 免疫荧光组化技术 .....	(146)	2.8.4.2 <sup>125</sup> I 标记的 C1q 结合	
2.7.2.1 直接法 .....	(146)	试验 .....	(157)
2.7.2.2 间接法 .....	(147)	2.8.5 IV型超敏反应皮肤试验 .....	(158)
2.7.2.3 补体法 .....	(147)	2.8.5.1 结核菌素试验 .....	(158)
2.7.2.4 双重免疫荧光		2.8.5.2 链激酶-链导酶(SK-SD)	
染色法 .....	(147)	皮肤试验 .....	(159)
		<b>参考文献</b> .....	(160)

### 3 医学遗传学技术

<b>3.1 细胞遗传学实验技术</b> .....	(161)	3.1.7 人类染色体 C 显带技术 .....	(169)
3.1.1 人的 X 染色质和鼓槌 .....	(161)	3.1.8 人类高分辨显带染色体标本	
3.1.2 人类的染色体及核仁		的制备技术 .....	(169)
形成区 .....	(162)	3.1.9 实体瘤细胞染色体标本	
3.1.3 人类的染色体核型 .....	(164)	的制备技术 .....	(171)
3.1.4 小白鼠骨髓细胞的染色体 .....	(165)	3.1.10 羊水细胞的培养及其染色体	
3.1.5 人类外周血淋巴细胞培养		标本的制备技术 .....	(172)
及染色体标本制备技术 .....	(166)	3.1.11 绒毛细胞的培养及其染色体	
3.1.6 人类染色体 G 显带技术		标本的制备技术 .....	(175)
及染色体 G 显带的鉴别 .....	(168)	3.1.12 X, Y 性染色质的检查 .....	(177)

3.1.13 X染色体脆性部位显示法 … (178)	3.2.3 小鼠骨髓嗜多染红细胞 微核试验 …………… (187)
<b>3.2 遗传毒理学实验技术 …………… (178)</b>	3.2.4 人外周血淋巴细胞微 核试验 …………… (189)
3.2.1 姐妹染色单体互换试验 …… (179)	3.2.5 精子畸形试验 …………… (190)
3.2.1.1 小鼠骨髓细胞姐妹染色单 体互换试验 …………… (180)	3.2.6 非程序 DNA 合成 …………… (192)
3.2.1.2 人外周血淋巴细胞姐妹染色 单体互换试验 …………… (181)	<b>参考文献 …………… (194)</b>
3.2.2 染色体畸变试验 …………… (183)	

## 4 分子生物学技术

<b>4.1 基因诊断技术 …………… (195)</b>	4.1.2.2 PCR 检测性别 …………… (212)
4.1.1 慢性粒细胞白血病的基因易位 与基因诊断 …………… (198)	4.1.3 PCR - SSCP 诊断法 …………… (214)
4.1.1.1 基因组 DNA 的 提取 …………… (199)	4.1.4 基因诊断的实验设计 …………… (216)
4.1.1.2 DNA 样品的纯化、 定量和浓缩 …………… (202)	<b>4.2 免疫分子生物学检测技术 …… (217)</b>
4.1.1.3 人染色体 DNA 的 限制性酶切 …………… (203)	4.2.1 免疫 PCR 检测 rhIL - 3 …… (217)
4.1.1.4 琼脂糖凝胶电泳分离 DNA 片段 …………… (204)	4.2.2 TNF $\alpha$ mRNA 表达的测定 …… (218)
4.1.1.5 Southern 印记转移 DNA 片段 …………… (206)	<b>4.3 HPV 基因的克隆及初步     鉴定 …………… (220)</b>
4.1.1.6 分子杂交和放射自 显影 …………… (207)	4.3.1 提取组织 DNA …………… (220)
4.1.2 用 PCR 扩增法检测性别 …… (211)	4.3.2 核酸定量 …………… (221)
4.1.2.1 微量外周血标本 制备模板 DNA …………… (212)	4.3.3 PCR 扩增 …………… (221)
	4.3.4 PCR 产物回收 …………… (221)
	4.3.5 连接反应 …………… (221)
	4.3.6 转化 …………… (222)
	4.3.7 阳性重组体筛选及 初步鉴定 …………… (222)
	<b>参考文献 …………… (222)</b>

## 5 细菌分析技术

<b>5.1 细菌染色技术 …………… (224)</b>	<b>5.3 细菌培养技术和生长     现象示教 …………… (230)</b>
5.1.1 细菌的革兰染色法 …………… (224)	5.3.1 平板划线分离培养法 …… (230)
5.1.2 细菌荚膜染色法(Hiss 法) … (225)	5.3.2 纯种细菌移种技术 …… (232)
5.1.3 细菌鞭毛染色法 …………… (226)	5.3.2.1 斜面培养基移种 技术 …………… (232)
5.1.4 细菌芽胞染色法 …………… (226)	5.3.2.2 液体培养基移种 技术 …………… (232)
5.1.5 抗酸染色法 …………… (227)	5.3.2.3 半固体培养基移种
5.1.6 奈瑟染色法 …………… (227)	
<b>5.2 细菌的分离培养 …………… (228)</b>	
5.2.1 常用培养基的制备 …………… (228)	



技术 .....	(233)	5.9.2 抗生素体内抑菌试验 (ED <sub>50</sub> 测定) .....	(248)
5.3.3 细菌在各种培养基上 生长现象的观察 .....	(234)	5.9.3 细菌或细菌毒素半数致死量 (LD <sub>50</sub> )测定 .....	(248)
<b>5.4 细菌基本形态和特殊结构</b> .....	(235)	<b>5.10 细菌的微生物学检查</b> .....	(249)
<b>5.5 细菌运动的观察</b> .....	(236)	5.10.1 葡萄球菌属 .....	(249)
<b>5.6 细菌的变异现象</b> .....	(236)	5.10.2 链球菌属 .....	(251)
5.6.1 H-O 变异 .....	(236)	5.10.2.1 化脓性链球菌 .....	(251)
5.6.2 细菌的 L 型变异 .....	(237)	5.10.2.2 肺炎链球菌 .....	(252)
5.6.3 细菌的耐药性基因突变 .....	(238)	5.10.2.3 脓汁中病原菌的分离 与鉴定 .....	(254)
5.6.4 S-R 变异 .....	(238)	5.10.3 奈瑟菌属 .....	(255)
<b>5.7 人体正常菌群的检测</b> .....	(239)	5.10.4 肠道杆菌 .....	(257)
5.7.1 手指皮肤的细菌检查 .....	(239)	5.10.5 霍乱弧菌 .....	(261)
5.7.2 口腔中细菌的检查 .....	(239)	5.10.6 厌氧性细菌 .....	(265)
<b>5.8 细菌遗传学试验</b> .....	(240)	5.10.7 棒状杆菌 .....	(268)
5.8.1 噬菌体的分离及其对细菌 的裂解试验 .....	(240)	5.10.8 分枝杆菌属 .....	(270)
5.8.2 细菌质粒的提取、酶切 与连接实验 .....	(241)	5.10.9 幽门螺杆菌 .....	(275)
5.8.3 接合试验 .....	(244)	5.10.9.1 侵入性检查 .....	(275)
5.8.4 转化试验 .....	(244)	5.10.9.2 非侵入性检查 .....	(277)
5.8.5 鼠伤寒沙门菌营养缺陷型 回复突变试验(Ame's test) .....	(245)	5.10.10 其他细菌 .....	(278)
<b>5.9 抗生素抑菌试验与细菌   耐药试验</b> .....	(246)	5.10.10.1 布鲁斯菌 .....	(278)
5.9.1 抗生素体外抑菌作用试验 .....	(246)	5.10.10.2 芽胞杆菌 .....	(278)
5.9.1.1 纸条法 .....	(246)	5.10.10.3 鼠疫耶尔森菌 .....	(278)
5.9.1.2 最小抑菌浓度(MIC) 及最小杀菌浓度(MBC) 测定 .....	(248)	5.10.10.4 铜绿假单胞菌 .....	(278)
		5.10.10.5 流感嗜血杆菌 .....	(279)
		5.10.10.6 军团菌 .....	(279)
		5.10.10.7 百日咳鲍特菌 .....	(279)
		5.10.11 自动细菌鉴定系统 .....	(280)
		<b>参考文献</b> .....	(281)

## 6 其他原核微生物的微生物学检查

<b>6.1 肺炎支原体</b> .....	(282)	6.3.1 立克次体形态及染色性 示教 .....	(284)
6.1.1 肺炎支原体“油煎蛋” 样菌落示教 .....	(282)	<b>6.4 螺旋体</b> .....	(284)
6.1.2 肺炎支原体冷凝集试验 .....	(282)	6.4.1 钩端螺旋体形态及染色性 示教 .....	(284)
<b>6.2 衣原体</b> .....	(283)	6.4.2 钩端螺旋体暗视野显微镜 检查法 .....	(284)
6.2.1 沙眼——包涵体结膜炎包涵体 的检查 .....	(283)	6.4.3 钩端螺旋体的分离与鉴定 .....	(285)
6.2.2 沙眼衣原体的分离培养 .....	(284)	6.4.4 钩端螺旋体凝集溶解试验 .....	(286)
<b>6.3 立克次体</b> .....	(284)		

- |                           |                            |
|---------------------------|----------------------------|
| 6.4.5 梅毒螺旋体的形态学检查 … (287) | 6.5 放线菌 …… (289)           |
| 6.4.6 梅毒螺旋体动物接种试验 … (287) | 6.5.1 放线菌“硫磺颗粒”示教 …… (289) |
| 6.4.7 诊断梅毒的血清学试验 …… (287) | 参考文献 …… (291)              |
| 6.4.8 回归热螺旋体形态示教 …… (289) |                            |

## 7 真菌学

- |                                      |                                 |
|--------------------------------------|---------------------------------|
| 7.1 真菌的形态结构及主要病原真菌<br>的形态示教 …… (292) | 7.6 白色念珠菌的分离与鉴定 …… (297)        |
| 7.2 真菌的培养物示教 …… (294)                | 7.7 新型隐球菌的形态与<br>染色性示教 …… (297) |
| 7.3 真菌的分离培养 …… (295)                 | 7.8 新型隐球菌的分离与鉴定 …… (298)        |
| 7.4 皮肤癣菌的临床标本检查 …… (296)             | 7.9 曲霉菌的检查法 …… (298)            |
| 7.5 白色念珠菌的形态示教 …… (296)              | 参考文献 …… (299)                   |

## 8 病毒学

- |                                 |                             |
|---------------------------------|-----------------------------|
| 8.1 病毒形态电镜照片<br>及包涵体示教 …… (300) | 及血凝抑制试验 …… (309)            |
| 8.2 病毒的培养方法 …… (301)            | 8.7 HIV 感染的微生物学检查 …… (312)  |
| 8.2.1 动物实验法 …… (301)            | 8.7.1 HIV 的分离与鉴定试验 …… (312) |
| 8.2.2 鸡胚培养法 …… (302)            | 8.7.2 HIV 抗体的检测试验 …… (312)  |
| 8.2.3 病毒的组织细胞培养法 …… (303)       | 8.8 HbSAg 检测试验 …… (314)     |
| 8.3 病毒的定量检测法 …… (304)           | 8.8.1 琼脂双向扩散试验 …… (314)     |
| 8.3.1 50%组织细胞感染量试验 …… (304)     | 8.8.2 对流免疫电泳 …… (314)       |
| 8.3.2 空(蚀)斑形成试验 …… (305)        | 8.8.3 反向间接血凝试验 …… (314)     |
| 8.4 中和试验 …… (306)               | 8.8.4 固相酶联免疫吸附试验 …… (315)   |
| 8.5 肠道病毒的分离与鉴定 …… (308)         | 8.9 HBV 的核酸检测试验 …… (315)    |
| 8.6 流感病毒的血凝                     | 8.10 HCV 抗体的检测试验 …… (316)   |
|                                 | 参考文献 …… (317)               |

## 9 人体寄生虫学实验技术

- |                            |                           |
|----------------------------|---------------------------|
| 9.1 病原学检查 …… (318)         | 9.2.1 皮内试验 …… (337)       |
| 9.1.1 粪便检查 …… (318)        | 9.2.2 环卵沉淀试验 …… (337)     |
| 9.1.2 血液检查 …… (326)        | 9.2.3 尾蚴膜反应 …… (338)      |
| 9.1.3 排泄物与分泌物等的检查 …… (329) | 9.2.4 免疫荧光法 …… (338)      |
| 9.1.4 其他器官组织检查 …… (330)    | 9.2.5 酶标抗原对流免疫电泳 …… (339) |
| 9.1.5 寄生虫的人工培养 …… (331)    | 9.2.6 间接血凝试验 …… (340)     |
| 9.1.6 寄生虫的动物模型 …… (335)    | 9.2.7 酶联免疫吸附试验 …… (340)   |
| 9.1.7 动物接种 …… (336)        | 9.2.8 免疫酶染色试验 …… (342)    |
| 9.2 免疫学检查 …… (337)         | 9.2.9 酶免疫转印技术 …… (343)    |

9.2.10 DNA 探针技术 .....	(344)	(日本血吸虫) .....	(358)
9.2.11 聚合酶链反应 .....	(344)	9.3.17 引起皮炎的血吸虫尾蚴 .....	(360)
<b>9.3 人体寄生虫形态学</b> .....	<b>(347)</b>	9.3.18 溶组织内阿米巴	
9.3.1 似蚓蛔线虫(蛔虫) .....	(347)	(痢疾阿米巴) .....	(360)
9.3.2 蠕形住肠线虫(蛲虫) .....	(349)	9.3.19 结肠内阿米巴	
9.3.3 钩虫 .....	(349)	(结肠阿米巴) .....	(361)
9.3.4 丝虫 .....	(350)	9.3.20 杜氏利什曼原虫 .....	(362)
9.3.5 毛首鞭形线虫(鞭虫) .....	(351)	9.3.21 阴道毛滴虫(阴道滴虫) .....	(362)
9.3.6 旋毛形线虫(旋毛虫) .....	(352)	9.3.22 蓝氏贾第鞭毛虫 .....	(363)
9.3.7 猪巨吻棘头虫 .....	(352)	9.3.23 疟原虫 .....	(363)
9.3.8 链状带绦虫(猪肉绦虫、		9.3.24 刚地弓形虫(弓形虫) .....	(365)
有钩绦虫、猪带绦虫) .....	(353)	9.3.25 蝉 .....	(365)
9.3.9 肥胖带绦虫(牛带绦虫、		9.3.26 螨 .....	(366)
牛肉绦虫、无钩绦虫) .....	(354)	9.3.27 蚊 .....	(366)
9.3.10 细粒棘球绦虫(包虫) .....	(355)	9.3.28 蝇 .....	(368)
9.3.11 微小膜壳绦虫 .....	(355)	9.3.29 白蛉 .....	(368)
9.3.12 曼氏迭宫绦虫 .....	(356)	9.3.30 蚤 .....	(368)
9.3.13 华支睾吸虫(肝吸虫) .....	(356)	9.3.31 虱 .....	(369)
9.3.14 布氏姜片吸虫(姜片虫) .....	(357)	9.3.32 蜚蠊 .....	(369)
9.3.15 卫氏并殖吸虫(肺吸虫) .....	(358)	<b>参考文献</b> .....	<b>(369)</b>
9.3.16 日本裂体吸虫			

## 10 疫苗研究技术

<b>10.1 疫苗研究的种类</b> .....	<b>(370)</b>	10.2.1 肿瘤疫苗 .....	(378)
10.1.1 基因工程疫苗 .....	(370)	10.2.2 感染性疾病疫苗 .....	(381)
10.1.2 肽疫苗 .....	(375)	10.2.3 食用疫苗 .....	(383)
10.1.3 抗独特型抗体疫苗 .....	(377)	<b>10.3 疫苗研究存在的问题</b> .....	<b>(385)</b>
<b>10.2 疫苗的应用</b> .....	<b>(378)</b>	<b>参考文献</b> .....	<b>(385)</b>

## 1.1 显微镜

显微镜是用来观察、记录和研究经过制片技术处理后被检物体细微结构的最主要的光学精密仪器。它广泛地应用于各学科领域中,对微观世界的探索及理论的研究起着极其重要的作用。

显微镜的种类繁多,不仅因制造年代和不同国家的产品有不同类型,而且在结构、造型及功能等方面亦各异。一般来说,根据照明光源的性质可分为“光学显微镜”和“非光学显微镜”。光学显微镜是利用人眼可见的可见光或紫外线作光源,它分为单式显微镜和复式显微镜。其中单式显微镜制造简单,放大率及性能均不高,它是由一块或几块透镜组成,如放大镜、平台解剖镜;而复式显微镜则是由多组透镜组合而成,并可根据结构、原理和应用范围的不同分多种类型,如常规普通复式显微镜、专用或多用特种显微镜(荧光和倒置显微镜)及大型多用途的万能显微镜。非光学显微镜不是利用人眼可见的可见光或紫外线作为光源,而是利用电子束作为光源,并且是以“电磁透镜”作透镜,因而也称电子显微镜。

### 1.1.1 光学显微镜

光学显微镜(light microscope)简称显微镜或光镜,是利用光线照明使微小物体形成放大影像的仪器。目前使用最广泛的是普通光学显微镜,此外还有相差显微镜、暗视野显微镜、荧光显微镜和倒置显微镜等。

#### 1.1.1.1 普通光学显微镜

1. 实验目的 了解普通光学显微镜的结构、性能及维护方法,熟练掌握其使用方法。
2. 实验原理 普通光学显微镜的基本工作原理是利用物镜和目镜的多组凸透镜将物像逐级放大并反射到视网膜上的过程。而显微镜性能和质量的的高低可通过分辨率、数值孔径、放大率及焦点深度、视场直径等指标来反映。

分辨率(resolving power)即显微镜的分辨本领,是指显微镜或人眼在 250 mm 和明视距离(能看清物像的最佳标准距离)处所能清楚分辨被检物体最小间隔的能力。它主要由物镜的



分辨率所决定而与目镜无关。计算公式如下：

$$R = \frac{0.61\lambda}{NA} = \frac{0.61\lambda}{n \cdot \sin\alpha/2}$$

其中  $\lambda$  为照明光源的波长,如白光  $\lambda \approx 0.5 \mu\text{m}$ 。n 为介质的折射率,如空气  $n = 1$ ,玻璃 = 1.52,香柏油 = 1.51,石蜡油 = 1.46。 $\alpha$  为镜口角,它是指在工作距离处位于物镜光轴上标本中的一个点所发出的光线到物镜的前透镜有效直径两端所形成的夹角。可见通过降低波长、增大介质折射率和加大镜口角及增加明暗反差是提高分辨率的有效手段。

数值孔径(numerical aperture, NA)也称镜口率,是直接决定显微镜分辨率的一个重要参数,其公式为:  $NA = n \cdot \sin\alpha/2$ ,其中镜口率数字越大,表示分辨力越高。

放大率(magnifying power)即放大倍数,是光镜性能的另一重要参数。它主要有  $4\times$ 、 $10\times$ 、 $40\times$  和  $100\times$  四种,其中  $4\times$  和  $10\times$  为低倍镜, $40\times$  为高倍镜, $100\times$  为油镜。另外,镜头长度随倍数的增加依次增长,而在不同放大倍数的物镜筒上还标有不同颜色的环,以用于区别。

低倍镜、高倍镜以空气为介质,而油镜需以香柏油或石蜡油为介质。这样就避免了由于油镜镜孔小,而使进入物镜的光线产生折射,从而导致视野暗淡,物像不清现象的发生。一台显微镜的总放大倍数等于目镜放大倍数与物镜放大倍数的乘积,如目镜  $10\times$ ,物镜为  $40\times$ ,其放大倍数为  $10 \times 40 = 400$  倍。常用显微镜的最大放大倍数为  $1600\times$ 。物镜和目镜的放大倍数可用下列公式计算:

$$\text{物镜放大倍数} = \frac{\text{镜筒长度}(110 \text{ mm})}{\text{物镜焦距}}; \quad \text{目镜放大倍数} = \frac{\text{明视距离}(250 \text{ mm})}{\text{目镜焦距}}$$

焦点深度(focal depth)即当显微镜对标本的某一点或平面聚焦时,焦点平面上下影像清晰的距离或范围。一般来说,焦点深度增大可看到被检物体的全层;反之,则只能看到被检物体的一薄层。公式为:

$$D = \frac{k \cdot n}{M \cdot NA}$$

其中,  $k = 240 \mu\text{m}$ ,  $n =$  介质折射率,  $M =$  总放大率,  $NA =$  数值孔径。

视场直径(viewing field)也称视场宽度或视场范围,是指在显微镜下看到的圆形视场内所能容纳被检物体的实际范围,其中视场直径愈大,愈便于观察。

### 3. 实验准备

- (1) 材料 洋葱、人口腔上皮细胞。
- (2) 仪器和器材 普通光学显微镜、载玻片、盖玻片、牙签、吸水纸、眼科镊、眼科剪。
- (3) 试剂 二甲苯、1%碘液。

### 4. 实验内容

(1) 显微镜的结构 显微镜(microscope)的主要结构由三部分组成:机械部分、照明部分和光学部分,见图1-1-1。

① 机械部分 它是显微镜的支架结构,主要包括镜座、镜柱、镜臂、镜筒、物镜转换器、载物台和调节器。

1) 镜座(base) 它是显微镜的基座,用以支持整个镜体的平稳。它常呈马蹄铁形、圆形或方形,有的显微镜在镜座内装有照明光源。