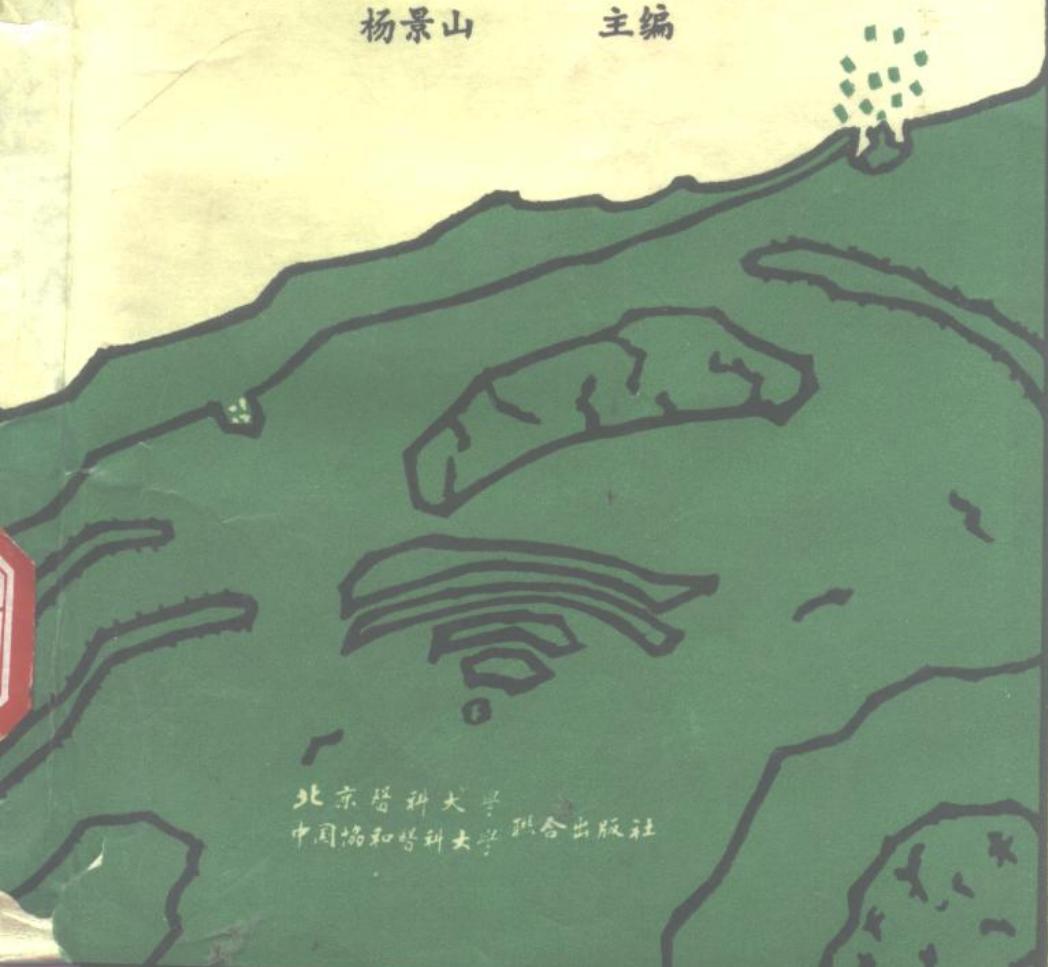


高等医药院校教材

医学细胞化学与 细胞生物技术

Cytochemical and Cytobiological Techniques

杨景山 主编



北京医科大学
中国协和医科大学联合出版社

医学细胞化学与细胞生物技术
Cytochemical and Cytobiological
Techniques

杨 景 山 主编

北京医科大学 联合出版社
中国协和医科大学

医学细胞化学与细胞生物技术

主 编：杨景山

责任编辑：施联蓉

北京医科大学联合出版社出版
中国协和医科大学

(社址：北京医科大学院内)

新华书店总店科技发行所发行 **各地新华书店经销**

北京市怀柔县东晓印刷厂印刷

开本：850×1168 1/32 印张： 16.75 字数： 433千字

1990年6月第一版 1990年6月第一次印刷 印数： 1-6000册

ISBN7-81034-024-7/R·25 定价：4.00元

医学细胞化学与细胞生物技术

Cytochemical and Cytobiological Techniques

杨 景 山 主编

主要编写人员（按姓氏笔划）

万景华 刘鼎新 朴英杰

杜云龙 李幼生 张叔行

陈珊珊 杨景山 葛忠良

前　　言

细胞作为人体的基本组成和结构、功能单位，在生命科学和医学中具有越来越重要的地位和意义。随着超微结构、免疫学和分子生物学等现代科技的迅速发展，对细胞认识的不断深化和更新，医学工作者已经不满足于用普通染色和油镜所观察到的结果，希望从更加广阔的生物学角度和分子水平的深度，采取多学科先进技术来研究人体的正常和异常细胞，综合性地认识和阐明细胞的结构与功能，增殖与分化，遗传与发生，以及疾病与病因病理。然而，迄今还很缺少这类集多学科、实用性于一体的、医用细胞科技工具书。在医学和细胞学界前辈的热情鼓励和支持下，在同道和学生们的期待之中，我们组织了各技术领域里有实际经验的著名专家教授共同撰写了《医学细胞化学与细胞生物技术》一书。此书是经典细胞学、生物化学与分子生物学技术相结合的必然产物，是近代细胞高科技发展的必然产物。

本书是在多种研究班、进修班和专题班教材的基础上反复充实修改而成。书中部分章节多举医学中常用的血细胞、免疫细胞、肿瘤细胞和其它悬液细胞为例，以近代细胞化学、超微细胞化学和细胞分析为主线，选取了医学细胞生物学技术中最有意义、最有代表性和可靠性的现代技术方法，兼顾了循序渐进和系统性。第一章介绍血液及悬液细胞标本的分离与制备。第二至五章介绍细胞化学、免疫细胞化学，活体染色和显微荧光术等光镜水平的细胞学技术。第六至九章论述了超微水平上研究细胞膜、细胞器的标志酶、糖蛋白、特异抗原和受体的最新技术。第十、十一章介绍了细胞培养、干细胞培养和微培养。第十二至十四章论述了细胞遗传染色体技术和分析，细胞定量分析，放射自显影和细胞动力

学分析。第十五、十六章为细胞融合、单克隆抗体制备和低温冻存技术，第十七章为分子（原位）杂交。书后附录介绍了常用试剂配制。

在各章内容上力求先简明扼要地讲解该类技术的意义、内容、分类、原理和应用，再以主要篇幅逐一介绍最有意义和代表性的技术方法（试剂设备、操作方法和结果分析）。内容和层次按国际标准亦即国家标准章节编排法，采用阿拉伯数字编号，如编号2.4.4代表第2章、第4节中第4个方法，以便查阅及编辑。全书总目录亦是简单的技术索引。作者深知，在短短的40多万字的篇幅内不可能全面论述和编辑如此广泛的技术，谨希望读者能借助书中那些典型的和标准的技术方法举一反三，并借助书后的文献、参考书查阅和深入。

本书撰写和出版过程中，受到许多专家和朋友的鼓励、支持和帮助，谨在此一并致谢。

面对医学生物高科技的迅速发展，作者们虽然试图努力写好本书，为医学和生命科学工作者筑座便桥通向研究和应用的高科技领域。但是由于多种原因和能力所限，书中不免出现漏洞、缺点，以至错误。我们衷心希望专家、朋友和读者们给予批评指正。

杨景山1989年11月于北京医科大学

目 录

前 言

1 血液及其它悬液细胞的采集、分离和标本制作	(1)
1.1 血液、骨髓和其它细胞的采集	(1)
1.1.1 人外周血的采集	(1)
1.1.2 小动物的采血	(2)
1.1.3 从脾脏和淋巴结采集免疫细胞	(2)
1.1.4 骨髓的采取及检查原则	(3)
髓前上棘穿刺术；髓后上棘穿刺术；小鼠骨髓的采集	
1.2 血液细胞和其它细胞的分离	(4)
1.2.1 分离外周血中的白细胞	(5)
自然沉降法；离心沉降法；明胶沉降法；其它方法；去除红细胞法	
1.2.2 分离外周血单个核细胞	(6)
分层液密度梯度离心法；Ficoll-Urografin分层液的配制；有核细胞的计数与计算	
1.2.3 淋巴细胞、单核细胞及巨噬细胞的分离	(11)
用贴附法分离单核细胞和巨噬细胞；尼龙毛分离法收取T细胞等非粘附细胞；葡聚糖凝胶法收取淋巴细胞；氨基铁磁引法收取淋巴细胞；花环沉降分离法收取纯T细胞；Percoll非连续性密度梯度离心分离法；细胞电泳分离法；流式细胞计分离法	
1.2.4 中性粒细胞的分离	(17)
1.2.5 从器官组织中分离和制备细胞悬液	(18)
分离方法的分类和影响因素；机械分离；螯合剂EDTA和柠檬酸分离法；利用双糖分离细胞团；蛋白水解酶分离法；蛋白酶抑制剂和稳定剂的使用	
1.3 涂片制作	(21)
1.3.1 涂片前准备	(21)
1.3.2 血涂片制作	(22)
1.3.3 骨髓涂片法	(22)

1.3.4 涂片质量评价	(22)
1.3.5 离心涂片法	(23)
1.4 常用染色技术	(23)
1.4.1 瑞氏染色	(24)
1.4.2 姬姆萨染色	(25)
1.4.3 瑞氏姬姆萨混合染色	(26)
1.4.4 瑞氏姬姆萨双重染色	(26)
1.4.5 麦一格氏染色	(26)
1.4.6 苏木精伊红染色	(27)
1.5 涂片检查法	(28)
1.5.1 骨髓涂片的检查	(28)
1.5.2 血涂片的检查	(29)
1.5.3 骨髓细胞的正常值	(29)
2 血液细胞化学	(32)
2.1 细胞化学的技术要求	(32)
2.2 细胞化学的研究内容	(33)
2.3 细胞化学的研究方法	(33)
2.3.1 显示方法	(33)
纯化学方法；类化学方法；物理学方法；免疫学方法；物理化学方法；显微烧灰法	
2.3.2 固定和固定液	(35)
4%甲醛缓冲液；4%多聚甲醛磷酸缓冲液；缓冲的多聚甲醛乙二醛液；Karnovsky固定液；缓冲的苦味酸甲醛液；Bouin固定液；Corney固定液；Clarke固定液；苯醌固定液；FAA固定液；甲醛蒸气固定；福尔马林钙固定液；甲醛丙酮磷酸缓冲液；冷丙酮固定液	
2.4 过氧化酶	(38)
2.4.1 Sato法	(38)
2.4.2 Washburn法	(39)
2.4.3 DAB法(Graham和Karnovsky 1966)	(39)
2.4.4 酸性过氧化物酶	(40)
2.4.5 过氧化酶的诊断学意义	(40)
2.5 磷酸酸	(41)

2.5.1	碱性磷酸酶的显示方法	(41)
	改良Gomori氏钙钻法显示碱性磷酸酶；Hayhoe氏偶氮偶联法显示碱性 磷酸酶；碱性磷酸酶的意义	
2.5.2	酸性磷酸酶显示法	(44)
	Gomori氏铅法；重氮盐偶联法	
2.5.3	三磷酸腺苷酶的显示	(45)
	铅法显示胞膜和线粒体三磷酸腺苷酶 (Lojda 1979)	
2.6	标志性脂酶	(47)
2.6.1	Braunstein法显示醋酸酯酶	(47)
2.6.2	酸性醋酸酯酶	(47)
2.6.3	氯醋酸ASD酯酶与丁酸酯酶的双重组化显示	(49)
2.6.4	丁酸酯酶的显示	(50)
2.6.5	氯醋酸ASD酯酶的显示	(51)
2.6.6	乙酰胆碱酯酶的显示 (Karnovsky和Roots法)	(51)
2.7	脱氢酶	(52)
2.7.1	甲酇反应显示琥珀酸脱氢酶	(52)
2.7.2	可溶性脱氢酶的显示	(53)
2.7.3	葡萄糖6磷酸脱氢酶的高铁血红蛋白还原试验	(55)
2.7.4	葡萄糖6磷酸脱氢酶的染色洗脱法	(55)
2.7.5	硝基蓝四唑试验	(56)
2.8	末端脱氧核苷酸转移酶	(57)
2.8.1	TdT的免疫荧光显示法	(58)
2.9	糖原及其他多糖	(58)
2.9.1	高碘酸雪夫 (PAS) 反应显示糖原和多糖	(58)
2.10	核酸的显示	(61)
2.10.1	甲绿派若宁法显示核糖核酸 (RNA)	(61)
2.10.2	Feulgen氏法显示脱氧核糖核酸 (DNA)	(62)
2.11	脂类	(63)
2.11.1	脂类的苏丹黑B显示法	(64)
2.12	含铁血黄素的显示 (普鲁氏蓝反应)	(65)
2.13	血液细胞化学在急性白血病诊断和预后中的应用	(66)
2.13.1	急性粒细胞性白血病	(67)

2.13.2	急性早幼粒细胞性白血病(APL, M3型)	(68)
2.13.3	急性单核细胞性白血病(AMOL, M5型)	(68)
2.13.4	急性粒单细胞性白血病(AMMOL, M4型)	(68)
2.13.5	急性红白血病(AEML, M6型)	(69)
2.13.6	急性淋巴细胞性白血病(ALL)	(69)
2.13.7	慢性粒细胞性白血病(CML)	(70)
2.13.8	毛细胞白血病(AHL)	(70)
3	免疫组织化学	
3.1	免疫血清的制备	(72)
3.1.1	抗原	(72)
3.1.2	佐剂	(73)
3.1.3	兔抗辣根过氧化物酶抗血清的制备	(73)
3.1.4	羊抗兔免疫球蛋白抗血清的制备	(75)
3.1.5	兔抗小鼠胸腺细胞抗血清的制备	(75)
3.1.6	兔抗绵羊红细胞抗血清的制备	(76)
3.1.7	抗半抗原小肽的抗血清制备	(77)
3.1.8	胆囊收缩素(CCK)片断的抗血清制备	(78)
3.1.9	特异性糖蛋白的提取及其抗体的制备	(79)
3.2	免疫血清的提纯	(81)
3.2.1	盐析法	(81)
3.2.2	凝胶过滤法	(82)
3.2.3	琼脂糖凝胶制备和纯化抗体	(83)
3.3	抗血清效价和纯度的测定	(83)
3.3.1	琼脂双向扩散法	(86)
3.3.2	环状沉淀法	(87)
3.4	几种免疫组织化学标记物的制备	(88)
3.4.1	可溶性酶抗酶(PAP)的制备	(88)
3.4.2	酶标蛋白A和酶标抗体的制备	(90)
3.4.3	胶体金标记蛋白A的制备	(92)
3.4.4	胶体金标记羊抗兔抗血清的制备	(92)
3.5	免疫组织化学染色	(92)
3.5.1	免疫组织化学的类型	(92)

3.5.2	免疫组化染色的重要环节	(93)
3.5.3	免疫组化的固定法	(95)
3.5.4	免疫组化的包埋和切片 冰冻切片；塑料包埋切片；石蜡切片；切片的贴附	(97)
3.5.5	免疫组化显示法 直接法；间接法；桥联法；酶一抗酶复合物法（PAP）；ABC法等原理； 荧光抗体直接法显示B淋巴细胞表面Ig(sIg)；免疫荧光直接法染组织特异抗原；免疫荧光间接法；荧光染色标本的封固与保存；免疫酶直接法染色；免疫酶间接法染色；PAP法(可溶性酶抗酶法)；双PAP法； ABC法(卵白素-生物素-过氧化物酶复合物法)；金标抗体法与PAP法的双重染色；免疫金一单克隆抗体显示白细胞表面分化抗原(CD)；应用单克隆抗体观察T细胞及其亚型；非血样品的单克隆抗体染色法；免疫组织化学的对照实验；非特异性染色和内源性过氧化酶的消除法；过氧化酶的显色剂及其配制；硫酸铵镁强化DAB的染色法；硫酸铵钴强化DAB的染色法	(98)
4 细胞的活体染色、相差显微镜及显微摄影术。		
4.1	活体染色	(115)
4.1.1	体内活体染色 中性红体内活体染色法；台盼蓝体内活体染色法	(115)
4.1.2	体外活体染色 中性红-贾那斯绿活体染色法；煌焦油蓝染色示网织红细胞	(116)
4.1.3	活细胞检测 台盼蓝排除法；中性红染色法；吖啶橙荧光染色法；苯胺黑排除试验；伊红Y排除试验；溴化乙啶(EB)和碘化丙啶(PI)排除法；双醋酸荧光素染色	(198)
4.2	相差显微镜及其应用	(121)
4.2.1	相差显微镜的原理与结构	(122)
4.2.2	相差显微镜的调试原则	(123)
4.2.3	血液活细胞标本制备与观察	(123)
4.2.4	活细胞标本的制备与观察	(125)
4.2.5	培养细胞的观察	(125)
4.3	显微摄影术	(125)
4.3.1	显微摄影装置	(126)

4.3.2 显微照像机的安装	(127)
4.3.3 显微摄影操作步骤	(127)
4.3.4 胶片冲洗	(128)
4.3.5 印制照片和幻灯片	(129)
4.3.6 滤色镜的选择和使用	(129)
4.3.7 正确的曝光	(130)
4.3.8 彩色显微摄影中的注意事项	(131)
5 荧光显微术	
5.1 荧光和荧光染料	(133)
5.2 荧光显微镜	(135)
5.2.1 光源	(135)
5.2.2 滤片系统	(136)
5.2.3 主机和暗视野集光器	(136)
5.2.4 荧光暗视野显微镜的操作原则	(138)
5.3 照相	(139)
5.4 组织和细胞荧光的分类	(139)
5.4.1 自发荧光	(139)
5.4.2 诱发荧光	(139)
5.4.3 酶促荧光	(139)
5.4.4 荧光染色	(139)
5.4.5 免疫荧光	(140)
5.5 荧光染色法	(140)
5.5.1 吖啶橙荧光染色显示DNA、RNA和酸性粘多糖	(140)
5.5.2 吖啶橙荧光染色鉴别细胞的死活	(141)
5.5.3 显示核酸的吖啶橙快速染色法	(141)
5.5.4 荧光Feulgen反应显示DNA	(141)
5.5.5 显示染色体带和姐妹染色单体的荧光染色	(142)
5.5.6 乙醛酸诱发单胺类荧光—SPG法	(142)
5.5.7 硫代黄素荧光染色法	(143)
5.6 荧光显微术中的问题及解决措施	(144)
5.7 细胞荧光光度术	(144)
5.7.1 应用Feulgen反应测定细胞DNA	(145)

6 电镜细胞化学技术

6.1 什么是电镜细胞化学技术	(147)
6.2 电镜酶细胞化学的技术原则和特点	(149)
6.2.1 固定剂和固定方法	(149)
6.2.2 缓冲液	(152)
6.2.3 捕获剂	(152)
6.2.4 孵育及孵育液	(153)
6.2.5 脱水和包埋(附包埋剂配方)	(155)
6.2.6 修块、超薄切片和电子染色	(159)
6.3 电镜标本和电镜细胞化学标本制作	(160)
6.3.1 血细胞和其他悬液细胞的电镜标本制作	(160)
6.3.2 酸性磷酸酶(AcP)	(161)
Barka—Anderson铅法; Gomori—MeDonden硫化铅法	
6.3.3 碱性磷酸酶(ALP)(附Caulfield碱酸后固定)	(163)
6.3.4 芳基硫酸酯酶(AS)	(164)
6.3.5 酸性醋酸酯酶(ANAE)	(166)
6.3.6 丁酸酯酶(ANBE)	(167)
6.3.7 过氧化物酶(peroxidasePO)	(168)
6.3.8 细胞色素氧化酶	(169)
6.3.9 琥珀酸脱氢酶(SDH)	(170)
6.3.10 焦磷酸硫胺素酶(TPP)	(170)
6.3.11 5'一核苷酸酶和三磷酸腺苷酶(ATP酶)	(171)
6.3.12 3'.5'一核苷酸磷酸二酯酶(3',5'NP)	(176)
6.3.13 腺苷酸环化酶(Adc)	(173)
6.3.14 葡萄糖6一磷酸酶(G6-P)	(174)
6.4 电镜免疫细胞化学技术	(175)
6.4.1 辣根过氧化物酶(HRP)标记抗体的戊二醛一步法	(176)
6.4.2 HRP标记抗体的戊二醛二步法	(176)
6.4.3 HRP标记抗体的过碘酸钠法	(177)
6.4.4 免疫电镜酶标间接法显示细胞特异抗原	(177)
6.4.5 包埋前酶标免疫电镜染色法	(178)
6.4.6 包埋前PAP免疫电镜染色法	(179)

6.4.7	包埋后酶标免疫电镜染色法	(180)
6.4.8	水溶性包埋剂 (K ₄ M) 包埋后染色法	(181)
6.4.9	显示特异抗原的免疫金—酶双重标记	(182)
7	细胞的金属超微标记技术	
7.1	超微标记技术的分类及评价	(188)
7.2	铁蛋白标记技术	(190)
7.2.1	离子化铁蛋白技术	(190)
7.2.2	阳离子化铁蛋白	(190)
7.2.3	铁蛋白标记抗体的免疫电镜技术	(191)
7.2.4	铁蛋白标记抗体的制备	(192)
7.2.5	铁蛋白标记抗体显示细胞特异抗原	(192)
7.2.6	铁蛋白标记凝集素进行亲和细胞化学	(193)
7.2.7	铁蛋白标记凝集素染色法	(194)
7.3	胶体金标记技术	(195)
7.3.1	胶体金标记技术的优点与特性	(196)
7.3.2	胶体金的制备	(197)
	制备胶体金的要求与准备：枸橼酸三钠还原法；鞣酸—枸橼酸钠还原法；白磷还原法；抗坏血酸还原法；乙醇—超声波还原法；硼氢化钠还原法；放射性胶体金的制备	
7.3.3	胶体金标记物（金探针）的制备	(199)
	最适蛋白质浓度的沉淀法；调测最适pH；胶体金标记蛋白质及其纯化；金标记胰岛素的制备；金标记胰高血糖素的制备；金标记凝集素(ConA)的制备；金标记辣根过氧化物酶复合物的制备	
7.4	金标记物染色技术	(204)
7.4.1	应用免疫金滤纸法鉴定抗体	(204)
7.4.2	石蜡切片的免疫金 (IGSS) 染色	(206)
7.4.3	蛋白A胶体金 (PAG) 的间接法染色	(207)
7.4.4	冰冻切片的免疫金 (IGSS) 间接法染色	(208)
7.4.5	环氧树脂半薄切片的免疫金染色	(208)
7.4.6	免疫金银技术	(209)
	银加强液的配制和使用；红色加强液的配制和使用；避光银加强液及染色	
7.4.7	电镜包埋前免疫金染色法	(210)

7.4.8	电镜包埋后免疫金染色法	(210)
7.4.9	金标记胰高血糖素显示受体法	(211)
8	细胞受体的显示和测定	
8.1	受体的研究方法概述	(214)
8.1.1	受体的基本概念	(214)
8.1.2	定位受体的形态学方法 标记物；标记配基示踪；标记抗体示踪	(215)
8.1.3	量效关系法研究受体	(215)
8.1.4	放射性配基受体结合实验	(217)
8.2	激素受体	(219)
8.2.1	类固醇激素受体 酶联雌二醇显示雌激素受体；荧光标记雌激素和孕酮显示雌激素受体和孕酮受体；雌激素受体和孕激素受体的同位素标记测定；雌激素受体的放射性配基法分析	(219)
8.2.2	肽类激素受体 金标法显示胰岛素受体；肽类激素受体的定位分析	(226)
8.2.3	甲状腺素受体	(229)
8.3	介质受体	(229)
8.3.1	胆碱能受体	(229)
8.3.2	肾上腺素能受体	(230)
8.4	免疫受体	(231)
8.4.1	Fc受体 Fc受体的EA花环检查法；热聚合免疫球蛋白荧光检查法；PAP显示法 PAP法电镜显示Fc受体；PAP超微量定量Fc受体	(231)
8.4.2	补体受体 EAC花环试验	(233) (238)
8.4.3	E受体 E花环试验；活性T花环试验；细胞分化抗原CD ₂ 与E受体	(239)
8.4.4	抗原受体 T细胞抗原受体的显示测定	(241)
8.4.5	白细胞介素受体 白细胞介素2受体的免疫荧光显示；白细胞介素2受体的免疫金电镜显示	(243)
8.5	凝集素受体	(245)

8.5.1	HRP法显示ConA受体	(245)
8.5.2	胶体金标记显示ConA受体	(247)
9	复合糖类的凝集素亲和细胞化学	
9.1	糖蛋白的糖链结构	(249)
9.1.1	N-糖苷链型糖链	(253)
9.1.2	O-糖苷链型糖链	(259)
9.2	显示糖链的亲和细胞化学技术	(251)
9.3	复合糖的一般电镜显示法	(256)
9.3.1	高碘酸-硫卡巴肼-蛋白银(PA-TCH-SP)染色法	(256)
9.3.2	胶体铁染色法	(257)
9.3.3	钌红染色法	(258)
9.3.4	阳离子化铁蛋白染色法	(259)
9.3.5	高铁二胺染色法	(259)
9.3.6	卵白素生物素染色法显示唾液酸	(259)
9.3.7	卵白素生物素法显示半乳糖残基	(260)
9.3.8	硝酸镧标记染色法	(261)
9.4	荧光素标记凝集素法	(262)
9.4.1	FITC-凝集素染色法	(262)
9.5	辣根过氧化物酶(HRP)标记法	(263)
9.5.1	HRP凝集素复合物的制备	(263)
9.5.2	HRP-凝集素光镜单染法	(264)
9.5.3	HRP-凝集素光镜双染法	(264)
9.5.4	HRP-凝集素电镜染色包埋前直接法	(265)
9.5.5	HRP-凝集素电镜染色包埋前间接法	(265)
9.5.6	HRP-凝集素电镜染色——包埋后直接法	(266)
9.5.7	HRP-凝集素电镜染色——包埋后间接法	(267)
9.6	抗凝集素抗体PAP法	(268)
9.6.1	光镜染色法	(268)
9.6.2	电镜包埋前染色法	(269)
9.6.3	电镜包埋后染色法	(269)
9.7	凝集素ABC法	(271)
9.8	铁蛋白标记法	(273)

9.8.1	铁蛋白标记凝集素的制备	(273)
9.8.2	组织块包埋前染色法	(273)
9.8.3	组织块包埋后染色法	(273)
9.8.4	扫描电镜标本的制备	(273)
9.9	胶体金标记凝集素染色法	(274)
9.9.1	胶体金标记凝集素(G-Con A)包埋前染色	(274)
9.9.2	G-Con A腹腔游离细胞染色法	(274)
9.9.3	G-Con A包埋后染色	(275)
9.9.4	胶体金—HRP双标凝集素染色法	(275)
9.10	复合糖抗体染色法	(276)
9.10.1	特异性糖蛋白的提取及抗体的制备、纯化	(276)
9.10.2	特异性糖蛋白的免疫细胞化学染色	(276)
9.11	糖脂的细胞化学	(277)
9.11.1	一般细胞化学染色	(278)
9.11.2	神经苷脂GM ₁ 免疫荧光染色	(278)
9.11.3	酶标抗体染色	(279)
9.11.4	A蛋白胶体金显示法	(279)
9.11.5	标记生物毒染色法	(280)
10	造血细胞的培养和测定技术	
10.1	造血干细胞与造血祖细胞	(282)
10.1.1	造血干细胞	(282)
10.1.2	造血祖细胞	(282)
10.2	造血干细胞的测定技术	(288)
10.2.1	CFU-S的测定技术	(288)
10.2.2	标记染色体测定脾结节的形成	(290)
10.2.3	脾结节移植法测定脾结节CFU-S	(291)
10.3	造血干细胞培养的基本设备与条件	(292)
10.3.1	实验室	(293)
10.3.2	器皿的清洗与消毒	(293)
	玻璃器皿的清洗与处理；消毒与除菌	
10.3.3	培养用品的选择与准备	(296)
	培养液的选择与配置；简易CO ₂ 发生器的制作与应用；5% 琼脂的配置；2.7%	