

现代医学实验技巧全书

(上册)

主编 方敏宏 周昌 丁敏 张德昌

北京医科大学中国协和医科大学联合出版社

101394

现代医学实验技巧全书

(上册)

主 编

方福德 周 吕 丁 濂 张德昌

北京医科大学
中国协和医科大学 联合出版社

110111

2000000

图书在版编目(CIP)数据

现代医学实验技巧全书/方福德等主编. —北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1995

ISBN 7-81034-504-4

I. 现… II. 方… III. 医学-实验-技术-百科全书 IV. R3-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(95)第 06625 号

现代医学实验技巧全书(上、下册)

方福德 周 吕 丁 濂 张德昌 主编

责任编辑:陈永生 钟紫红

*

北京医科大学 联合出版社出版
中国协和医科大学

四方计算机照排中心排版

北京昌平精工印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

*

787×1092 毫米 1/16 印张 132.375 彩插 1 页 千字 3306

1995 年 12 月第一版 1995 年 12 月北京第一次印刷

印数:1—2000

ISBN 7-81034-504-4/R·503

(上、下册)定 价:256.00 元

正确掌握和运用现代医学实验技术是发展现代医学的重要基石

陈敏章
一九八四年六月

内 容 简 介

本书是国内出版的第一部全面系统地介绍现代医学研究方法和实验技巧的专著，旨在反映国际最新发展动态和趋势，促进生物医学各学科的相互渗透和融合，力求使读者一书在手即可获得多方面的知识和技能，解决实验和临床的实际问题。全书共 12 篇 66 章，涵盖基础医学全部 14 个学科和临床医学部分学科的内容。数十位知名科学家担任主要撰稿人。本书具有新颖、全面、先进、实用等突出的特点，是医学和生物学科科研工作者、临床工作者和高等院校师生不可多得的大型参考书和工具书。

本书编委会成员

(以姓氏笔划为序)

丁 濂	方福德	周 吕	张德昌
林其燧	袁建刚	龚伊红	黄尚志
章静波	管远志	潘华珍	

参加编写人员名单

(以姓氏笔划为序)

- | | |
|-----|--------------------|
| 丁 濂 | (中国医学科学院基础医学研究所) |
| 于俊阁 | (中国中医研究院基础医学研究所) |
| 马文丽 | (第一军医大学) |
| 文允镒 | (中国医学科学院基础医学研究所) |
| 王平原 | (中国科学院生物物理研究所) |
| 倪安平 | (北京协和医院) |
| 马绍武 | (中国医学科学院基础医学研究所) |
| 戴顺龄 | (中国医学科学院基础医学研究所) |
| 方炳良 | (中国医学科学院基础医学研究所) |
| 王 新 | (中国医学科学院基础医学研究所) |
| 方福德 | (中国医学科学院基础医学研究所) |
| 王慧珍 | (北京协和医院) |
| 田小利 | (中国医学科学院心血管病研究所) |
| 丛玉荣 | (中国人民解放军总医院) |
| 宁志芬 | (中国医学科学院基础医学研究所) |
| 叶益新 | (中国医学科学院基础医学研究所) |
| 卢耀增 | (中国医学科学院医学实验动物研究所) |
| 叶常青 | (军事医学科学院放射医学研究所) |
| 叶莱英 | (中国医学科学院基础医学研究所) |
| 孙仁宇 | (中国医学科学院基础医学研究所) |
| 朱立平 | (中国医学科学院基础医学研究所) |
| 刘 东 | (中国医学科学院基础医学研究所) |
| 朱 迅 | (白求恩医科大学基础部) |
| 刘 红 | (中国医学科学院心血管病研究所) |
| 冯立明 | (中国医学科学院基础医学研究所) |
| 任民峰 | (中国医学科学院基础医学研究所) |
| 刘尔翔 | (中国医学科学院基础医学研究所) |

许建宁	(中国预防医学科学院劳动卫生与职业病研究所)
刘秉慈	(中国预防医学科学院劳动卫生与职业病研究所)
孙 玲	(铁道部北京铁路总医院)
冯 璐	(中国医学科学院肿瘤研究所)
齐保申	(中国医学科学院基础医学研究所)
刘春芸	(中国医学科学院基础医学研究所)
许荣焜	(中国医学科学院基础医学研究所)
刘 燕	(中国协和医科大学基础医学院)
朱高发	(中国协和医科大学基础医学院)
刘晓冰	(中国医学科学院基础医学研究所)
许彩民	(中国医学科学院基础医学研究所)
刘强远	(中国医学科学院基础医学研究所)
刘景生	(中国医学科学院基础医学研究所)
许嘉齐	(中国医学科学院医药生物技术研究所)
许增禄	(中国医学科学院基础医学研究所)
何玉先	(北京天坛医院)
陈兰英	(中国医学科学院心血管病研究所)
陈 娟	(中国协和医科大学基础医学院)
陆 群	(中国医学科学院基础医学研究所)
李 霞	(中国医学科学院基础医学研究所)
李 巍	(中国协和医科大学基础医学院)
李向印	(河北医学院)
阿学静	(北京协和医院)
应国华	(河北医学院)
汪宝珍	(军事医学科学院仪器测试中心)
宋春风	(河北医学院)
宋耀虹	(北京协和医院)
陈晋彦	(中国医学科学院基础医学研究所)
苏雅娴	(北京医科大学基础医学研究所)
李蓉生	(北京协和医院)
陈啸梅	(中国医学科学院基础医学研究所)

李德高	(北京协和医院)
余曙华	(中国医学科学院基础医学研究所)
严徽瑾	(中国协和医科大学基础医学院)
罗 兰	(中国医学科学院基础医学研究所)
周 吕	(中国医学科学院基础医学研究所)
杨 怡	(军事医学科学院仪器测试中心)
杨 珉	(中国科学院上海生物化学研究所)
郑 政	(中国医学科学院基础医学研究所)
周文郁	(中国医学科学院基础医学研究所)
周立平	(中国医学科学院基础医学研究所)
郑永芳	(中国医学科学院基础医学研究所)
吴光玉	(中国医学科学院基础医学研究所)
屈金河	(中国医学科学院基础医学研究所)
周宝桐	(解放军 304 医院)
罗质璞	(军事医学科学院)
林其燧	(北京协和医院)
周贵民	(中国人民解放军总医院)
邵荣光	(中国医学科学院医药生物技术研究所)
杨振华	(北京医院)
周晓梅	(中国医学科学院基础医学研究所)
单敬东	(中国科学院上海生物化学研究所)
杨静霞	(中国医学科学院基础医学研究所)
张 坚	(中国医学科学院微循环研究所)
张 凯	(中国协和医科大学基础医学院)
张 荣	(中国医学科学院基础医学研究所)
赵 莹	(中国医学科学院基础医学研究所)
柳力公	(中国医学科学院基础医学研究所)
张小晓	(中国医学科学院基础医学研究所)
张为民	(中国医学科学院基础医学研究所)
胡文辉	(中国医学科学院基础医学研究所)
赵大庆	(中国科学院长春应用化学研究所)
张永莲	(中国科学院上海生物化学研究所)

胡庆和	(宁夏医学院)
张世馥	(中国医学科学院基础医学研究所)
张时民	(北京协和医院)
张承训	(中国医学科学院基础医学研究所)
段金江	(中国医学科学院基础医学研究所)
冠明光	(中国医学科学院卫生学校)
张绍渤	(北京友谊医院)
张荣泉	(上海市卫生防疫站)
张梅林	(中国医学科学院基础医学研究所)
张敏磊	(中国医学科学院基础医学研究所)
修瑞娟	(中国医学科学院微循环研究所)
胡粹青	(中国科学院生物物理研究所)
张德昌	(中国医学科学院基础医学研究所)
恽君惕	(中国医学科学院基础医学研究所)
凌明圣	(军事医学科学院基础医学研究所)
袁建刚	(中国医学科学院基础医学研究所)
徐明波	(军事医学科学院基础医学研究所)
高春生	(中国医学科学院基础医学研究所)
徐轶珺	(中国医学科学院基础医学研究所)
徐晓石	(中国医学科学院基础医学研究所)
袁丽芳	(中国医学科学院基础医学研究所)
高惠兰	(中国预防医学科学院劳动卫生与职业病研究所)
高德添	(军事医学科学院仪器测试中心)
黄 芬	(中国科学院生物物理研究所)
殷 雷	(中国医学科学院基础医学研究所)
黄天华	(中国医学科学院基础医学研究所)
龚伊红	(中国医学科学院基础医学研究所)
黄受方	(北京友谊医院)
黄尚志	(中国医学科学院基础医学研究所)
曹春霞	(中国医学科学院基础医学研究所)
崔莲仙	(中国医学科学院基础医学研究所)
章静波	(中国医学科学院基础医学研究所)

彭小忠	(中国医学科学院基础医学研究所)
曾 萱	(中国医学科学院基础医学研究所)
郭玉凤	(中国医学科学院基础医学研究所)
程在玉	(中国医学科学院基础医学研究所)
谢益宽	(中国医学科学院基础医学研究所)
谢锦玉	(中国中医研究院基础理论研究所)
程锦轩	(中国医学科学院基础医学研究所)
路 涛	(中国医学科学院基础医学研究所)
鲍忠祈	(军事医学科学院基础医学研究所)
管远志	(中国医学科学院基础医学研究所)
缪时英	(中国医学科学院基础医学研究所)
潘华珍	(中国医学科学院基础医学研究所)
蔡英年	(中国医学科学院基础医学研究所)
薛全福	(中国医学科学院基础医学研究所)
魏文杰	(中国丹麦医学生物学培训中心)

序

分子生物学的发展，使人们对生命现象、疾病过程、机体免疫、药理作用等有了更深入的认识。近代生物技术科学的出现，极大地推动了生物医学各基础和临床学科的进展。新的研究手段加快了学科的发展；新的检查方法、诊治措施，提高了诊治效果，正在迅速地改变一些过去的临床常规步骤。

专业学科工作者必须跟上生物医学的进展，学习新知识，掌握新技术。很多学科已经建立了以分子生物学为基础的实验和研究技术实验室。为适应这种需要，这本《现代医学实验技巧全书》介绍一些传统的和新发展的生物技术研究和实验方法，使读者能够较方便地获得必要的知识，包括基础理论和新技术，并熟悉各有关技巧。

本书的编者分别是分子生物学、细胞生物学、形态学、生理学、病理学、药理学、免疫学、临床检验等方面有实践经验的专家。他们不仅对传统的专业技术有坚实的基础，而且近年来在应用新生物技术上，积累了不少经验。他们编写本书，从实用出发，简要说明实验技术的理论基础，并介绍了自己的经验和技巧。这本书无疑将对推动现代医学实验技巧的应用、医学各基础和临床学科的发展，以及医学实验技巧的不断充实提高起到了很好的作用。

谨向广大医学基础和临床学科的科技工作者推荐本书。

吴阶平

1994年4月18日

序

《现代医学实验技巧全书》是国内出版的第一部全面介绍生物医学科学中使用的技术和方法的大型工具书，它系统地介绍了基础医学 14 个学科和临床检验学最新的技术方法，包括近 10 年来发展迅速的重组 DNA 技术、研究基因表达调控的技术、杂交瘤和单克隆抗体技术、研究细胞膜离子通道，以及受体和跨膜信息传递的技术等等，同时也详细介绍了基础与临床医学常用的方法。使读者一书在手，即可了解现代医学实验方法的全貌，用最新、最灵敏、最准确的方法去实现自己的研究设想，解决实验和临床的实际问题。

《现代医学实验技巧全书》由中国医学科学院基础医学研究所方福德、周吕、丁灏、张德昌等 4 位教授精心主编，他们在生物化学、生理学、病理学和药理学方面有较高的造诣，并由修瑞娟教授等近 50 名著名医学专家执笔撰写。书中介绍的各个方法都是国内外最新技术成果，并渗透着编写者自己的经验，有很高的指导性和实用性。故郑重推荐此书供广大的医学同道参阅。

吴 旻

1994 年 5 月 18 日

编者前言

最近一二十年间,医学研究取得了前所未有的巨大发展。医学的成就在相当大程度上得益于科学新思想和新技术的推动,同时对医学科学工作者提出了更高的要求。一个优秀的基础医学或临床医学工作者不仅应当对医学各学科领域的现代进展有所了解,而且应当比较熟悉和掌握医学广泛领域内的研究方法和技巧,唯有这样,才能适应现代医学高度综合发展的需要。近10年来,我国医学科学研究水平已有长足进步,但与国际先进水平相比仍有不小的差距。为了促进医学各学科的相互渗透和融合,编写一部以介绍研究方法和实验技巧为主要内容的专著,实乃当务之急。在这种思想指导下,经过全体编写者近一年的努力,终于使这部200余万字的书稿如期付梓,本书的出版凝聚着他们的心血和奉献精神,在此表示衷心的感谢!

在本书编写过程中,始终刻意突出“新颖、全面、先进、实用”的特点。全书共安排12篇66章,对基础医学所有学科、临床医学部分学科及与医学相关的部分学科的研究方法和技巧进行比较详尽的介绍,读者一册在手,当可获得现代医学的全面知识和技能。在内容取舍方面,尽可能荟集目前国际上最新的研究成果和方法,有的内容甚至是在脱稿之际作者从参加国际学术会议所得资料中精选出来的。在不少章节中,还介绍有关研究的设计思路和窍门,这是很宝贵的。对于那些经典的但仍很有用的研究方法和技巧,也一并收入。

学科交叉和融合是现代科学发展的显著特点,本书试图尽量体现这一特点。不少内容很难确定究竟属于哪个学科范畴,只是为了编排上方便起见才将其置于某一学科内容之中。

医学是科学的综合体,内容庞杂。本书在精选的前提下,将相关的内容编成相对独立的章节,不少章节是以往有关著作中所缺少而读者渴望知道的内容,可以说,本书各章涉及到的不论是新兴学科还是经典学科,几乎都或多或少包罗这样的内容,它们令人耳目一新。更有幸者,很多章节还是编写者自己工作和经验的总结,在学术上具有一定的独到之处,这些内容为本书增添了光彩。

医学研究方法和技巧是经过众多作者长期实践和改进形成的,是科学家集体智慧的结晶,因此在必要之处对某些背景材料和知识加以介绍。为便于读者进一步阅读相关资料,每个章节给出了主要参考文献,并从有关书刊上搜集了部分有用的数据资料和附录附在书末。须指出的是,有些内容由于很难确定原始作者,未能注明出处,请有关作者谅解。对于直接或间接为本书作出贡献的人们,谨致崇高的敬意!

由于本书涵盖学科多,篇幅宏大,少数人难以胜任全书的撰写任务,有鉴于此,我们邀请了百余位在第一线工作的专家参与编写,他们中很多人是相关学科领域中的知名科学家。为了切实保证书稿的科学性和高质量,还组成编委会负责审定。但不庸讳言,因编写者众,难免在行文风格和规范方面出现不一致,个别地方内容有重叠,尽管在统稿和编辑处理时作了调整,仍不能达到理想程度,有待今后改进。

本书在筹划、组织和编写过程中得到了生物医学界同仁的大力帮助和鼓励。特别高兴的是,中国科学院院士、著名医学家吴阶平教授和中国科学院院士、著名遗传学家吴旻教授为

本书作序，中华人民共和国卫生部部长陈敏章教授也在百忙之中为本书题词。对于各位同仁的关怀和支持，我们表示深深的谢忱！

最后，在本书即将出版发行之际，我们满怀感激之情向北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社表示诚挚的谢意，由于他们的支持和辛勤劳动，本书才得以最快速度与读者见面。当我们把本书呈献给读者的时候，同时也期待着广大读者提出宝贵意见，以便再版修改时参考。

方福德 周 吕 丁 濂 张德昌
一九九四年四月十五日于中国医学科学院，北京

目 录

第一篇 形态学与病理学

第一章 光学显微镜技术	(3)
第一节 概说.....	(3)
第二节 各种显微镜的性能和使用.....	(4)
第三节 显微照相技术.....	(10)
第四节 制片技术.....	(14)
第二章 组织化学	(105)
第一节 固定与制片.....	(105)
第二节 蛋白质、糖类、脂质及核酸组织化学反应.....	(107)
第三节 酶组织化学.....	(135)
第四节 免疫组织化学.....	(165)
第五节 原位核酸分子杂交.....	(190)
第六节 原位聚合酶链反应及其他原位标记技术.....	(236)
第三章 电子显微镜技术	(241)
第一节 超薄切片技术.....	(241)
第二节 扫描电镜标本制备技术.....	(252)
第三节 冷冻复型电镜技术.....	(260)
第四节 电镜细胞化学.....	(263)
第五节 免疫电镜技术.....	(279)
第六节 扫描隧道显微镜标本制备技术.....	(296)
第七节 电镜生物 x 射线微区分析技术	(305)
第四章 定量形态学	(316)
第一节 研究范围.....	(316)
第二节 基本原理.....	(317)
第三节 样本的采集及制备.....	(317)
第四节 测试工具.....	(332)
第五节 二维图像参数.....	(347)
第六节 体视学参数.....	(359)
第七节 结构成份总量计算.....	(387)
第八节 数值修约和书写表达.....	(388)
第九节 形态计量学参数的应用.....	(390)
第十节 定量细胞化学.....	(410)

第十一节 流式细胞技术.....	(413)
------------------	-------

第二篇 细胞生物学

第一章 细胞和器官培养技术.....	(429)
第一节 人和动物组织的原代培养.....	(429)
第二节 培养细胞的传代.....	(431)
第三节 人皮肤成纤维细胞培养.....	(432)
第四节 人外周血淋巴细胞培养.....	(433)
第五节 人羊水细胞培养.....	(434)
第六节 人绒毛膜细胞培养.....	(435)
第七节 培养细胞的冻存与复苏.....	(436)
第八节 器官培养.....	(437)
第九节 细胞杂交技术.....	(440)
第二章 细胞生物学研究技术.....	(444)
第一节 培养细胞增殖动力学分析.....	(444)
第二节 体外细胞系的建立.....	(447)
第三节 放射自显影技术.....	(451)
第四节 缩时电影显微照相术.....	(456)
第五节 培养细胞的显微注射法.....	(457)
第六节 细胞骨架及核骨架技术.....	(458)
第三章 细胞分离技术.....	(461)
第一节 细胞分离的一般技术和注意事项.....	(461)
第二节 液体样品中的细胞分离.....	(466)
第三节 从组织器官分离细胞.....	(469)
第四节 肝脏灌流分离肝细胞.....	(472)
第五节 细胞淘洗法.....	(474)
第六节 细胞电泳分离技术.....	(476)
第四章 细胞通讯研究技术.....	(482)
第一节 前言.....	(482)
第二节 细胞通讯研究方法.....	(483)
第三节 细胞通讯研究方法的应用和实验设计.....	(489)

第三篇 生物化学与生物物理学

第一章 层析技术.....	(493)
第一节 凝胶过滤层析技术.....	(493)
第二节 离子交换层析技术.....	(504)
第三节 亲和层析技术.....	(509)