



LONGMAN

生物学 实验技术

Allan Jones, Rob Reed
and Jonathan Weyers / 著

李玲 张春荣 郭建军 翻译



湖南科学技术出版社



LONGMAN

生物学 实验技术

Allan Jones, Rob Reed
and Jonathan Weyers / 著

李玲 张春荣 郭建军 翻译

湖南科学技术出版社

生物学实验技术

著 者:Allan Jones, Rob Reed and Jonathan Weyers

翻 译:李 玲 张春荣 郭建军

责任编辑:刘堤地 唐乘花 张 珍

出版发行:湖南科学技术出版社

社 址:长沙市湘雅路 280 号

<http://www.hnstp.com>

邮购联系:本社直销科 0731—4375808

印 刷:益阳人民印刷有限公司

(印装质量问题请直接与本厂联系)

厂 址:益阳市五一东路 268 号

邮 编:413001

经 销:湖南省新华书店

出版日期:2001 年 11 月第 1 版第 1 次

开 本:880mm × 1230mm 1/16

印 张:22.375

字 数:615000

书 号:ISBN 7-5357-3362-X/Q·62

定 价:38.00 元

(版权所有·翻印必究)

所有生物学知识和理论都来源于实际观察和实验,因此,实验室工作和野外工作是培养大学生实践能力的重要组成部分。现代生物学实验技术是多种多样的,包括观察、绘图和记录的方法,以及高技术分析设备的操作方法。学生应能设计研究方案,做好实验记录,进行数据分析以及书面或口头报告实验情况。有些实验技术是专一性的,在研究生阶段也能使用。遗憾的是,生物学实验教学大纲既受到越来越大的内部压力(生物学基础知识不断地快速扩张),也受到越来越大的外部压力(与其他课程的教学竞争时间)。而且,由于三年教育途径的扩展,学生之间知识背景和经历的差距越来越大。他们希望在第一学期就接受复杂的技能训练,因而需要一些实验改革。

本书旨在为学生(和老师)在实验前后或实验过程中提供帮助。我们试图介绍大学早期阶段生物学及相关学科如植物学、微生物学和动物学的大部分技能,也希望本书在同学们进入更高学历层次时仍能使用。由于涉及的技术范围较广,我们不可能为每一问题列出详尽的解决方案。对一般原理的学习可以更深入地了解方法的合理性,这是单纯背诵各种方案所做不到的。本书总结了学生学习所需的许多经验,另外还补充了其他核心技术。在适当的地方列有说明、提示、实例、“怎样做”图文框和分类条目,以使内容简明而且使用方便。虽然在必要的地方对有关的理论进行了阐述,本书的重点仍在实际应用方面。

本书作者之间地位平等,姓名按字母顺序列出。本书的写作得到了各位作者夫人的支持,她们是 Angela, Polly 和 Mary。我们也十分感谢阅读了本书原稿并提出了可行性建议或提供了有关资料的同事们、朋友们:Gail Alexander, Steve Atkins, Janet Aucock, Olivia Bragg, Sally Brown, Cathy Caudwell, Charlie Dixon, Jackie Eager, Jennifer Gallacher, Alan Grant, Karen Gowlett - Holmes, Margaret Gruber, Bryan Harrison, David Hopkins, Steve Hubbard, Andy Johnston, Roy Oliver, Neil Paterson, John Raven, Pete Rowell, J. Andrew, C. Smith, Philip Smith, Susan Smith, Peter Sprent, Bill Tomlinson, Bob Young 和 Hilary - Kay Young, 以下人员在多个章节中有特殊贡献,因而特别列出:Richard A' Brook, Eldridge Buultjens, Hugh Ingram, Rob Herbert,

Dave Holmes 和 Will Whitfield。本书有些章节在大学课堂上进行了尝试,在此,我们也感谢那些提出了可行性建议的学生们。尽管有了以上帮助,本书存在的任何错误仍由我们负责。我们将十分感谢您找出任何错误。

ALLAN JONES, ROB REED 和 JONATHAN WEYERS

《生物学实验技术》(*Practical Skill in Biology*)一书自首版发行以来深受人们欢迎——这不仅可从评论家大量的评论中看出来,也可从国内外的销售统计表中看出来。方法的新颖性和所涉范围的广泛性得到了人们的赞同。本书意大利文版的发行也受到了人们的称赞。另外,我们还收到了老师们积极的评价,他们对本书提供的帮助表示了感谢。不过,实事求是地说,我们收到的最好的评价来自于学生们。在 Dundee 和 Newcastle,没有什么比看到学生们在实验或进行课题研究时充分利用该书而使我们更高兴了。

本书第二版在创作过程中遇到了不少问题:如果将第一版成功的模式变动太大,我们将丧失其灵魂。然而,我们觉得有必要增添一些新的内容,更新一些章节,在有些地方变动一下侧重点。那么,怎样才能使第二版更适合那些对机体生物学、传统微生物学和生态学感兴趣的人呢?本书的姊妹篇《生物分子科学实验技术》(*Practical Skill in Biomolecular Sciences*)的出版为我们解决了这一问题。由于本书在国外也十分畅销,我们注意到第一版中仅对国内适用的内容,也应对国外适用。本书对四个章节的内容进行了说明。其一是课题研究,由于“工作即学习”的趋势越来越明显,我们希望先前的建议能够促进以后的完善;其二是孟德尔遗传学中的关键概念,理解其基础知识对以后的学习十分重要;其三是动植物组织和细胞的研究,缓解了对微生物培养材料的需求;其四是因特网和万维网的使用,可帮助学生获取不断扩大的信息资源。为了加入这些说明而又不增加本书的篇幅(及成本),我们合并了第一版中的一些章节(如第一节和第二节,第三节和第四节),而将其他章节进行了一些删减。

我们对其他章节进行了大幅度的修改,提高了两版之间 IT 的重要性——这可从一些章节特别是介绍信息获取、数据处理及工作报告等章节的许多细微变化中看出来。我们在常用的两个统计测验(Student 氏 t -检验和卡平方检验)中插入了两个“怎样做”图文框,并增加了现在学校中很少介绍的对数和指数的内容,以此来强调数值和统计学的重要性。一些基本技术(如液体移取、溶液配制、图表绘制)及一些专业化的知识(如突变分析中的 Ames 测验和噬菌体操作)也增添了新的内容。最后一章“考试”也增加了关于学习技巧的内

容。

Addison Wesley Longman (<http://www.awl-he.com/>) 对本书十分支持,允许我们彩色排版,使本书的内容和图表更加生动,也使页边提示、定义和实例更加分明。这样,我们保留并更好地利用了两栏格式。在每篇正文相关的地方列举了一个或多个“要点”;页边提示、实例和定义的数量增加了1/3以上,图表和图文框的数目也增加了约1/5。

第一版出版后,我们发现了许多错误,有一些在印刷过程中进行了修改。我们希望本版中不再存在过多的错误,同时,再一次希望读者在早期阶段提出任何问题,以便尽快修改。

最后,我们感谢支持本版工作的同事们和家人们,包括第一版前言中已经列举的人员。特别要感谢: Brian Eddy, David Hopkins, Wendy James, Ian Kill, Dave Holmes, Steve Millam, Rachel Morris, Zoë Reed, Ian Winship, Will Whitfield 和 Hilary – Kay Young。

ALLAN JONES(a. m. jones@dundee. ac. uk)

ROB REED(rob. reed@unn. ac. uk)

JONATHAN WEYERS(j. d. b. weyers@dundee. ac. uk)

第 1 章 基础实验技术	(1)
第 1 节 基本原则	(3)
第 2 节 健康与安全	(6)
第 3 节 液体的量取	(9)
第 4 节 实验室基本规程	(15)
第 5 节 溶液化学原理	(25)
第 6 节 pH 值与缓冲液	(32)
第 2 章 研究方法	(39)
第 7 节 测量的原理	(41)
第 8 节 SI 单位及其应用	(45)
第 9 节 观察	(50)
第 10 节 绘图与图解	(53)
第 11 节 样本和取样	(59)
第 12 节 科学方法和实验设计	(63)
第 13 节 实验工作记录	(70)
第 14 节 课题研究	(75)
第 3 章 标本的采集与鉴定	(79)
第 15 节 动植物标本的采集	(81)
第 16 节 动植物标本的固定与保存	(83)
第 17 节 微生物的收集与分离	(88)
第 18 节 生物的命名和分类	(92)
第 19 节 动物和植物的鉴定	(97)
第 20 节 微生物的鉴定	(102)
第 4 章 标本的制备与观察	(109)
第 21 节 解剖的目的与操作	(111)
第 22 节 显微镜	(116)
第 23 节 光学显微镜标本的制备	(119)
第 24 节 光学显微镜的设置与使用	(126)

第 25 节	显微图像的分析	(131)
第 26 节	无菌技术	(136)
第 27 节	细胞培养	(143)
第 28 节	对动植物组织和细胞的研究	(150)
第 29 节	照相与影像	(156)
第 30 节	生长与响应的测定	(161)
第 5 章	现代实验技术	(167)
第 31 节	免疫技术	(169)
第 32 节	酶学研究方法	(176)
第 33 节	孟德尔遗传学	(184)
第 34 节	基因工程技术	(190)
第 35 节	光测定	(197)
第 36 节	放射性同位素及其应用	(201)
第 37 节	测量氧含量	(210)
第 38 节	离心技术	(213)
第 39 节	光谱技术	(219)
第 40 节	层析技术	(226)
第 6 章	数据分析与统计	(235)
第 41 节	原始数据的处理与转换	(237)
第 42 节	绘图	(241)
第 43 节	制表	(247)
第 44 节	解决数据问题的技巧	(250)
第 45 节	描述性统计学	(258)
第 46 节	统计检验的选取与使用	(266)
第 7 章	信息技术和图书馆资料	(277)
第 47 节	因特网和万维网	(279)
第 48 节	制表软件的使用	(284)
第 49 节	文字处理器、数据库及其他软件包	(289)
第 50 节	文献的查找与引用	(296)
第 8 章	信息交流	(301)

第 51 节	科学论文写作概述	(303)
第 52 节	论文写作	(308)
第 53 节	课题研究报告	(311)
第 54 节	文献综述	(315)
第 55 节	墙报的设计与展出	(318)
第 56 节	口头报告	(322)
第 57 节	考试	(327)
参与文献		(335)
索引		(339)

1 基础实验技术

1	基本原则	3
2	健康与安全	6
3	液体的量取	9
4	实验室基本规程	15
5	溶液化学原理	25
6	pH 值与缓冲液	32



基本原则

实践技能的培养——包括：

- 观察与测量；
- 记录数据；
- 设计实验；
- 分析和解释数据；
- 提交报告。

在实验室中使用课本——实验时携带一本与实验有关的课本，以便在实验过程中充分利用各种信息。

科学的所有知识和理论都来源于实际观察和实验，这一点，无论是对于显微镜检术还是对于分子遗传学来说，都是如此。实验课是大多数课程的重要部分，在评分中常常占有重要的比例。本书旨在提供一本易学易用的参考书，以便大家掌握生物科学的基本实验技术与技能。在实验课上培养起来的能力对你完成学业和从事工作将具有深远的影响。

充分准备

要点 实验前准备越充分，则受益越多。不要认为实验课上一切都会准备好，自己不用动手。

切记几点：

• 预先阅读实验内容，明确实验目的和实验技能。该实验与你当前的课堂学习有关吗？是否需要复习或预习这部分内容？

• 实验时携带课本，以便解释实验中遇到的问题。

• 在开始实验之前考虑一下可能出现的安全问题和危险性，以及应采取的措施。

• 认真聆听老师的指导，记下重点，必要时调整一下实验方法。

• 实验过程中要保持桌面整洁：实验课本放在工作区附近，但不要放在工作区以内；把清洁的器具放在实验桌的一边，使用过的放在另一边。

• 尽快完成实验报告并按时上交，否则会丢分。

• 尽快补做遗漏的实验，最好在下次实验之前补上。

基本要求

记录实验结果

活页装订的 A4 记事夹使用起来灵活方便，可以在适当的位置插入实验记录或实验图表。但其主要缺陷是容易丢失一张或多张记录纸。使用记事本可避免此问题，但无关或空白的纸张会浪费一部分空

提交报告——虽然你不需要成为绘图设计专家,但实验报告的版面和展示非常重要,做得太差就会丢分。

间——可以将绘图纸粘贴在记事本中。

准备一支质量较好的 HB 铅笔或活动铅笔记原始数据或绘图,以便于修改;用黑色油性记号笔在玻璃器皿上做标记;用优质精细的绘图钢笔定稿;用透明直尺(边缘未破损)绘图,以便看清尺子下面的内容。

计算器种类甚多,既有只具有一个存储器,没有预编程的普通计算器,也有具有多个存储器,可以预编程的尖端微型计算机。在使用计算器时,要了解以下几点:

- 电源。选用干电池供电的计算器,而不选用交流电或太阳能供电的计算器。计算器要具有开方、对数、求根、括号及统计函数(如样本平均数和标准差)等基本的数学或科学运算功能。

- 运算模式。旧运算系统(如 Hewlett Pakard 计算器)为逆向输入模式,如计算 2 与 4 的和,输入顺序为“2”、“Enter”、“4”、“+”,显示结果为“6”。大多数现代计算器采用普通模式,如“ $2 + 4 =$ ”,这种运算模式更为直观。花一些时间了解你的计算器的运算模式,例如是否按几何逻辑运算(先输入“ $\sqrt{\quad}$ ”,然后输入数字,而不是先输入数字,后输入“ $\sqrt{\quad}$ ”)。了解计算器是如何处理科学符号的。

显示。有些计算器显示整个数学运算过程(如“ $2 + 4 = 6$ ”),而其他计算器只显示最终结果。前者有利于查寻错误。

- 复杂性。普通计算不要选用复杂的计算器,虽然它们具有许多程序化的函数,但很少应用——应当选用具有较多存储器以及括号和统计函数而不是工程或纯数学常数的计算器。较高级的研究可以使用可编程的计算机。但是,值得注意的是考试时不能使用这种计算机。

绘图——图形要足够大,以便于阅读:经常因比例尺选择不当而使图形太小。

打印胶片——标准的透明胶片不能用于激光打印和复印,应选用特制的胶片类型。

在许多实验报告和课题研究中,需要使用较高级的制作设备,如计算机绘图软件。在课题报告和墙报展示时,使用容易阅读的字体,并认真设计版面和内容。另外,也可使用精细的绘图钢笔和字母印章(如 Letraset® 产品)制作报告,但这种方法要比使用计算机花费更多时间。

用油性记号笔和醋酸纤维胶片为口头报告制备一些透明胶片。用计算机软件制作的课题报告可以用激光打印机直接打印在特制醋酸

纤维胶片或 35 mm 幻灯片上。报告内容也可直接复印在特制醋酸纤维胶片上。第 56 节将介绍如何作口头报告。



健康与安全

在英国,《健康与安全工作法(1974)》为健康与安全提供了重要的法律保障,Control of Substances Hazardous to Health (COSHH) Regulations 1994 and 1996《有害物质控制法规(1994)和(1996)》为有害化学物质和生物试剂的危险性评估提出了专门的法律要求。Approved Codes of Practice《实验室法规》,严格控制有害物质、致癌物、生物试剂(包括病原微生物)的使用。

定义

危害性(hazard)——一种物质或生物试剂引起毒害的能力。

危险性(risk)——在特定条件下,某种物质或生物试剂产生危害的可能性。

区别危害性与危险性——水的危害性之一是能使人溺死,而几滴水使人溺死的危险性是不存在的。



图 2.1 有害物质进入人体的主要途径

《健康与安全工作法》要求研究机构为工作人员提供安全无害的工作环境,并对工作人员进行安全操作的宣传和培训。学生和职员必须对自己和他人的健康与安全负责,正确使用一切安全设备。

要点

记住,一切实验工作都必须在安全条件下进行,以避免对自己和他人的危害。安全是每个人的责任。

危险性评估

开展安全工作的第一步通常是进行危险性评估,内容包括:

1. 实验物质固有的化学、生物、物理的危害性及其最大的接触限量(maximum exposure limits, MELs)或职业接触标准(occupational exposure standards, OESs)。化学物质生产商应提供化学物质危害程度的列表。病原(致病)微生物根据其致病能力进行分类(见第 26 节)。

2. 危险性。要考虑到化学物质的使用量、使用方法及侵入人体的可能途径(图 2.1)。在此,要区分特定物质的内在危害性与其在特定实验中的危险性的不同。

3. 处于危险环境中的人接触危险物质的方式,还包括意外泄露。

4. 阻止或控制有害物品泄露的措施。理想的方法是使用无害或微害的替代品。如果不行,则要采取适当的控制措施(如通风橱或其他操作间)及自我保护设施(如实验工作服、安全眼镜)。同时要考虑安全的处理措施。

记录危险评估的结果,告诉在危险环境中工作的人员有关的安全知识。大多数实验室的危险评估由负责人提前进行:评估结果写入实验规程。学生在实验前应了解系里提供的安全知识,并阅读有关文件。在实验的开始阶段要与安全工作的负责人密切联系。在进行任何实验工作之前,你都要与导师一起进行危险性评估。

除了专门的危险性评估外,大多数研究机构都有安全手册,给出了安全工作的一般细则以及安全负责人、第一救助员、医生等有关人员的姓名和电话号码。切记要阅读和遵守这些规则。



实验室工作的基本规则

• 熟悉如何处理着火事故, 包括安全出口的位置, 怎样启动报警器, 脱离着火现场后在哪里集合等细节。切记, 在任何时候, 人身安全是第一位的。非安全境地不要救火。

• 所有实验室都要出示通知, 告诉你万一发生事故在哪里寻找救助设备, 与谁联系等。事故后要向主管人员报告事故过程, 包括看起来不严重的事故。管理人员将按照安全法规进行正式记录。

• 时刻着装保护衣: 整洁的实验服(扣好纽扣), 戴安全眼镜(对眼睛有害的场合)。

• 严禁在实验室吸烟、饮食, 以免吸入或误食污染物(图 2.1)。

• 使用移液管时, 不要用嘴吸取液体, 应使用洗耳球(见第 3 节)。

• 小心使用玻璃仪器(见第 3 节)。

• 了解危险化学品药品的警告标志。

• 要在通风橱中操作危险化学品药品。保证通风橱正常工作, 必要时不要打开通风橱, 通风橱上一般标有最大开口限度。

• 危险药品的用量应尽量少。

• 操作时干净利落, 有条理, 考虑周密, 尽可能避免事故发生。

• 每次实验完毕要进行彻底清理, 这既是保证安全的重要方法, 也培养了对实验工作负责的态度。

野外工作的基本规则

• 出发前了解野外工作的目的、潜在的危险以及合适的防护措施。

• 认真设计工作方案, 充分考虑参与人员的经历和工作地点的环境。不要过高估计预期结果——野外工作通常比实验室工作要求更严格。

• 组织者应充分考虑参与人员的身体素质, 并采取谨慎的措施。

• 备齐第一救助设备, 至少有两名参与人员接受过救助培训。

• 未经组织者或领队允许, 不要单独工作。

• 携带地图和指南针, 并会正确使用。

陆上

鸣笛(哨) 六长声, 燃点火堆, 挥动手臂或持续大声喊叫求助, 需要时, 间歇一分钟后重复

水上

1. 鸣放汽笛或燃点火炬, 摩尔斯信号“SOS”用以下方式表达: “三声短笛或三次灯光短暂闪烁——三声长笛或三次灯光延时闪烁——三声短笛或三次灯光短暂闪烁”, 稍停, 然后重复

2. 慢慢举起手臂, 慢慢放下, 然后重复

3. 将一件颜色鲜艳的衣服捆在杆上, 左右缓慢摇摆

4. 施放红色焰火或橙色烟雾