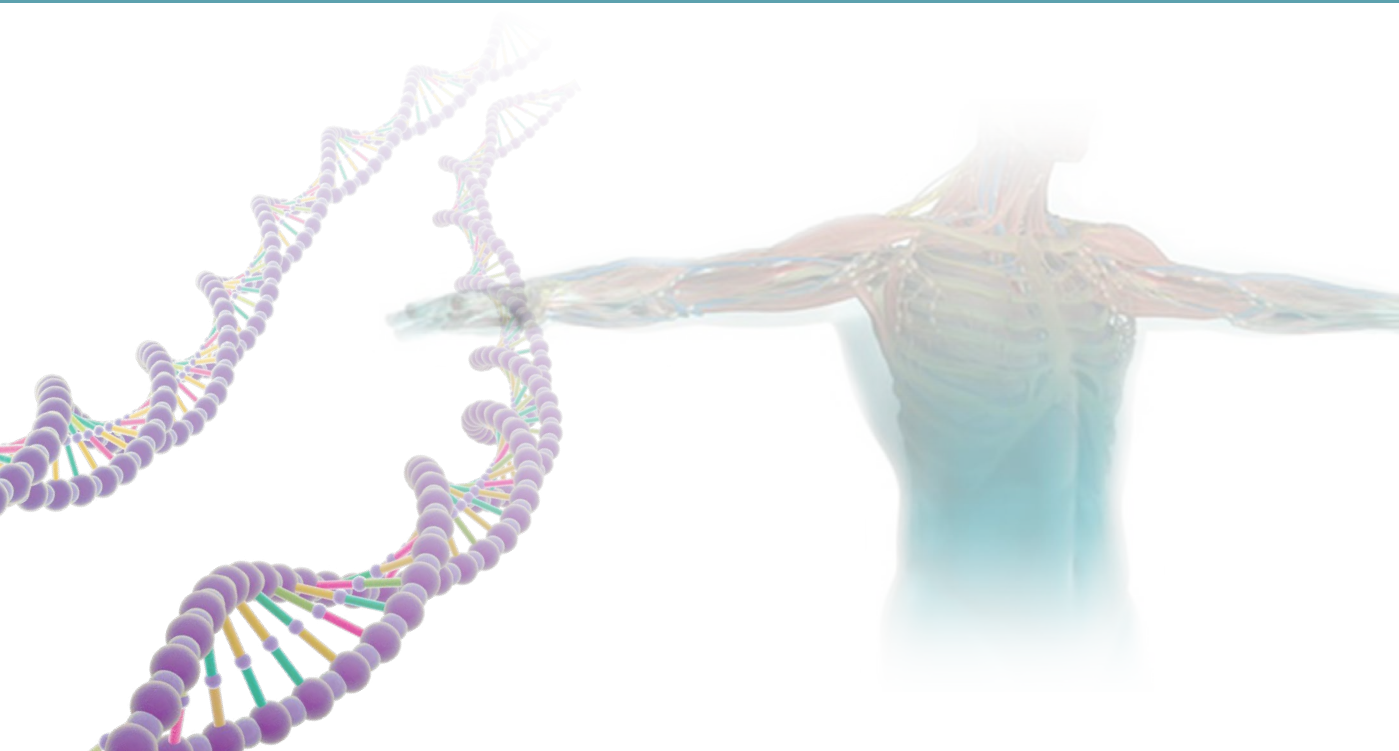


实用生物医学 概论教程

李 力 廖 明 主 编



广西科学技术出版社

实用生物医学 概论教程

主 编 李 力 廖 明

副主编 (按姓氏笔画为序)

尹富强 李 卫 钟艳平

谢 莹 臧 宁 黎丹戎

编 者 (按姓氏笔画为序)

韦世录 成晓静 刘 夏

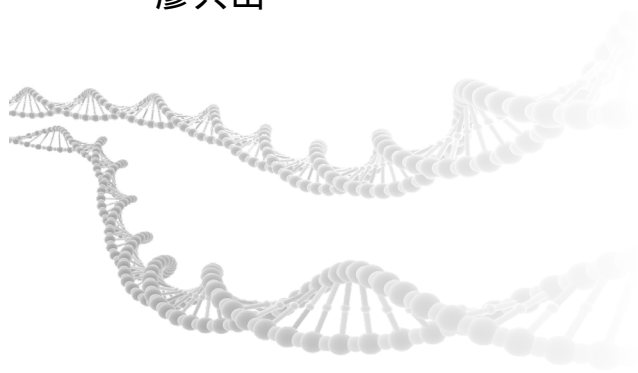
吴 华 李 刚 李卫东

张学荣 杨小丽 周晓莹

郑 华 郑 立 林 兴

胡艳玲 黄元姣 雷丹青

廖共山



广西科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

实用生物医学概论教程 / 李力, 廖明主编. —南宁:
广西科学技术出版社, 2016. 7
ISBN 978-7-5551-0603-6

I. ①实… II. ①李… ②廖… III. ①生物工程—医学工程—教材 IV. ①R318

中国版本图书馆CIP数据核字 (2016) 第 058788 号

实用生物医学概论教程

李 力 廖 明 主 编

责任编辑: 林 坚
责任校对: 黎 桦

封面设计: 苏 畅
责任印制: 韦文印

出 版 人: 韦鸿学
社 址: 广西南宁市东葛路 66 号
网 址: <http://www.gxkjs.com>

出版发行: 广西科学技术出版社
邮政编码: 530022

经 销: 全国各地新华书店
印 刷: 广西大华印刷有限公司
地 址: 广西南宁市高新区科园大道 62 号
开 本: 787 mm × 1092 mm 1/16
字 数: 530 千字
版 次: 2016 年 7 月第 1 版
书 号: ISBN 978-7-5551-0603-6
定 价: 32.00 元

邮政编码: 530007

印 张: 24.25
印 次: 2016 年 7 月第 1 次印刷

版权所有 侵权必究

质量服务承诺: 如发现缺页、错页、倒装等印装质量问题, 可直接向本社调换。

前 言

生物医学是综合医学、生命科学和生物学的理论和方法发展起来的前沿交叉学科，基本任务是运用生物学、生物技术及工程技术手段研究和解决生命科学，特别是医学中的有关问题。生物医学是基础理论创新和生物技术进步的基础，是生物技术、分子生物学、生物医学信息等技术的学术研究和创新的基地，是关系到提高医疗诊断水平和人类自身健康的重要研究领域。

生物医学是今后相当长时间内令人振奋的科技领域，许多国家在生物技术和生命科学研究上投入了大量的人力和物力。生物医学研究领域正成为各国高度重视和研发的重点，这是由其本身具有的重要的产业化市场前景和可能带来重大的理论突破所决定的，这对我们从事医学研究的科研工作者来说，既是机遇，又是挑战。因此，了解生物医学领域的前沿技术、关键技术及技术的创新发展，对于医学生来说极为重要。

广西医科大学医学科学实验中心多年承担学校研究生和本科生的科学研究指导，特别是作为学校生物医学领域的研究技术支撑，在多年的教学实践和科学研究中积淀了厚实的生物医学研究技术。为了让医学生更好地掌握生物医学领域的研究前沿及各类研究技术，并能综合运用到医学基础研究工作中，在考虑医学生现有的知识水平的基础上，编写了这本理论与实践相结合便于医学生使用的《实用生物医学概论教程》。本书的编者都是在一线从事科研和教学的中青年教师，他们本身具备较好的生物医学、分子生物学、生物技术及各类生命组学等多学科知识，同时在多年来从事医学生科学研究指导和培养工作中也深知医学生在学习这些知识的难点所在。因此，《实用生物医学概论教程》采用由浅入深的方法，涵盖了生物医学研究领域的大部分研究技术，既有常规的生物医学研究技术，也有最新的技术前沿，尤为重要的是教程引入了应用实例，这些研究例子均来自多年的教学实践和科学研究的直接转化。因此，本书既可作为生物学或医学学生的课程培训的教材，也可作为生物医学研究技术的工具书。

由于编写人员理论水平和实验经验有限，书中难免存在不足之处，还望广大师生及读者提出批评和改进意见，以便今后进一步修订提高。

编者

2015年8月22日

目 录

第一章	生物医学试验方法策略	(1)
第一节	研究问题的提出和研究方法的确立	(1)
	一、研究领域的发展	(1)
	二、问题的提出	(3)
	三、提出问题的假说或理论	(4)
	四、研究方向的界限	(5)
	五、研究内容的界定	(6)
第二节	实验方法学的对应	(7)
	一、实验对象的选择	(7)
	二、实验对照的考虑	(8)
	三、技术方法的选用	(9)
	四、技术路线的确立	(10)
	五、实验内容与处理因素的相应性	(11)
第三节	实验内容的合理与完善	(12)
	一、时间和空间的相关性	(12)
	二、实验的可重复性	(12)
	三、体外实验与体内实验的一致性	(12)
	四、生命组学的应用	(13)
	五、实验结果的连贯性	(13)
	六、实验的补充(或替补与完善)	(13)
第四节	实验结果的分析与讨论	(13)
	一、确立实验结果内涵的不同性或差异	(13)
	二、不同性或差异性对于生物医学研究的局限	(14)
	三、与前人(或他人)研究的连续或发展	(14)
	四、回答所提出的问题的真实性	(14)
	五、对假说(或理论)成立的解答或判定	(14)
第五节	试验资料的整理与论文发表	(15)
	一、明确影响因子在相应刊物的格式要求	(15)

二、按相应刊物格式要求进行文章写作	(15)
三、参考文献的阅读和引用，强调最新文献的引用	(15)
四、依据实验结果讨论所提出的问题，回答其真实性	(17)
五、依托和结合文献提供的领域发展，解答或判定假说（或理论）的成立	(17)
第二章 实验室规则及安全防护	(18)
第一节 实验室规则	(18)
第二节 实验室安全防护	(18)
一、实验室安全制度	(18)
二、生物安全管理	(19)
三、实验动物的安全管理	(20)
四、化学药品的安全管理	(21)
五、实验室“三废”处理	(22)
第三章 基因组学常用实验技术	(23)
第一节 核酸分离纯化	(23)
一、基因组 DNA 的提取制备	(23)
二、总 RNA 的提取制备	(25)
三、质粒 DNA 的提取制备	(27)
四、琼脂糖凝胶电泳	(29)
五、聚合酶链式反应技术	(31)
六、反转录 PCR	(38)
七、荧光定量 PCR 技术	(40)
八、限制性内切酶	(46)
九、凝胶中 DNA 片段的纯化回收	(51)
第二节 分子杂交技术	(52)
一、核酸分子探针的种类	(53)
二、探针的标记物	(54)
三、探针的标记方法	(55)
四、标记探针的检测方法	(63)
五、固相核酸杂交方法	(68)
第三节 DNA 序列分析技术	(80)
一、DNA 测序原理	(80)
二、DNA 测序的常用技术	(81)
三、DNA 测序策略	(81)
四、全自动激光荧光 DNA 测序	(83)

第四节	DNA 芯片的使用	(86)
	一、DNA 芯片的概述	(86)
	二、DNA 芯片的应用	(86)
	三、DNA 芯片的制作	(88)
	四、实验步骤	(89)
	五、注意事项	(90)
第五节	细菌培养技术	(91)
	一、原理	(91)
	二、仪器、材料与试剂	(91)
	三、实验步骤	(92)
	四、注意事项	(92)
第六节	感受态细胞制备	(92)
	一、原理	(92)
	二、实验材料准备	(93)
	三、实验步骤	(93)
	四、注意事项	(94)
第七节	DNA 体外重组技术	(94)
	一、原理	(94)
	二、DNA 体外重组载体的种类和选择	(95)
	三、基因工程中常用的工具酶	(97)
	四、实验方法	(100)
第八节	外源基因在原核生物中的表达	(103)
	一、实验原理	(103)
	二、实验步骤	(104)
	三、注意事项	(105)
第九节	外源基因在真核细胞中的表达	(105)
	一、磷酸钙共沉淀	(106)
	二、电穿孔法	(106)
	三、阳离子脂质体试剂	(108)
第十节	反义 RNA	(109)
	一、反义 RNA 的原理	(109)
	二、反义 RNA 的应用	(110)
	三、反义 RNA 的实验步骤	(110)
	四、注意事项	(111)
第十一节	RNA 干扰	(111)
	一、RNA 干扰的原理	(111)

二、RNA 干扰的应用	(113)
三、RNA 干扰的实验步骤	(113)
四、注意事项	(115)
第十二节 基因敲除	(115)
一、基因敲除的原理	(115)
二、动物基因敲除的步骤	(116)
三、动物基因敲除的应用	(117)
第十三节 转基因动物	(118)
一、转基因动物的原理	(118)
二、转基因动物的步骤	(119)
三、转基因动物的主要方法	(119)
四、转基因动物的应用	(120)
附：肺结核杆菌 rpoB 基因 DNA 的扩增及测序分析实例	(122)
第四章 蛋白质分离鉴定相关技术	(129)
第一节 根据分子量大小不同进行分离纯化蛋白质	(129)
一、凝胶过滤层析	(129)
二、变性聚丙烯酰胺凝胶电泳	(131)
第二节 根据蛋白质带点性不同进行分离纯化	(134)
一、离子交换层析法的原理	(134)
二、离子交换剂及平衡缓冲剂的选择原则	(134)
三、离子交换柱的装柱与平衡方法	(135)
四、待纯化样品的准备和加样方法	(135)
五、洗脱分离过程	(135)
六、目标蛋白峰与杂峰的分离策略	(135)
七、离子交换剂的处理和保存	(135)
八、离子交换层析操作注意事项	(136)
第三节 根据蛋白质的疏水性不同进行分离纯化	(136)
一、疏水作用层析的基本原理	(136)
二、层析介质的选择	(137)
三、对样品的要求	(137)
四、常用的洗脱方式	(137)
五、层析介质的清洗与再生注意事项	(137)
六、影响疏水性吸附的主要因素	(138)
第四节 根据蛋白质的极性差异进行分离纯化	(138)
一、反相层析的基本原理	(138)
二、反相层析的应用特点	(139)

	三、反相层析的操作要点	(139)
	四、反相层析应用的注意事项	(140)
第五节	根据蛋白质的配体特异性进行分离纯化	(140)
	一、亲和层析的基本原理	(140)
	二、亲和层析的基质与配基的选择	(141)
	三、亲和层析的基本实验步骤	(141)
	四、亲和层析的操作注意事项	(142)
第六节	根据蛋白质的等电点差异进行分离纯化	(142)
	一、等电聚焦电泳的实验原理	(142)
	二、等电聚焦电泳所用的仪器和试剂	(143)
	三、等电聚焦电泳实验全流程简介	(143)
第七节	用高效液相色谱方法进行蛋白质的分离纯化	(145)
	一、高效液相色谱法的基本原理	(145)
	二、高效液相色谱仪的组成	(146)
	三、HPLC 在蛋白质分离中的应用及操作规程	(146)
	四、注意事项	(148)
第八节	蛋白质的浓缩方法	(149)
	一、离子交换吸附法	(150)
	二、沉淀法	(150)
	三、超滤法	(152)
	四、冷冻干燥法	(153)
	五、吸收法	(154)
第九节	蛋白质浓度定量方法	(154)
	一、Lowry 法	(154)
	二、紫外吸收法测定蛋白质含量	(156)
	三、考马斯亮蓝 G-250 染色法	(157)
	四、BCA 法	(158)
第十节	蛋白质分子量测定方法	(159)
	一、不连续聚丙烯酰胺凝胶电泳	(159)
	二、凝胶过滤层析法	(162)
第十一节	混合蛋白中特定蛋白质的含量的测定方法	(165)
	一、酶联免疫吸附技术	(165)
	二、蛋白质印迹	(167)
第十三节	用于蛋白质定性和定量的质谱方法	(169)
	一、电喷雾离子化质谱 (ESI-MS)	(169)
	二、基质辅助激光解析电离飞行时间质谱	(171)

三、高效液相色谱/双向电泳与基质辅助激光解析电离飞行时间质谱联用	(172)
附：蛋白质定性、定量分析应用实例	(174)
第五章 代谢组学	(179)
一、代谢组学简介	(179)
二、代谢组学的研究方法	(181)
三、代谢组学在医学领域的应用	(193)
附：代谢组学应用实例	(196)
第六章 细胞学相关实验技术	(208)
第一节 细胞培养基本知识	(208)
一、体外培养细胞的种类	(208)
二、体外培养细胞的特征	(209)
三、培养细胞所需的条件与环境	(210)
四、细胞培养室的设置	(212)
五、细胞培养室的设备	(214)
六、细胞培养用品的清洗和消毒灭菌	(216)
第二节 细胞培养的基本技术	(221)
一、基本操作技术和要求	(221)
二、原代培养	(224)
三、传代培养和细胞系的维持	(225)
四、细胞冻存与复苏	(227)
第三节 细胞形态观察与检测	(229)
一、活细胞观察法	(229)
二、细胞固定染色法	(233)
三、电子显微镜观察法	(235)
第四节 细胞遗传学的检测方法	(249)
一、染色体结构显示与检测	(249)
二、染色体基因定位	(251)
第五节 细胞生物行为研究方法	(253)
一、细胞活力检测方法	(253)
二、细胞生长曲线	(257)
三、细胞凋亡的检测方法	(258)
四、克隆(集落)形成试验	(265)
五、细胞迁移运动与侵袭能力实验	(266)
六、细胞黏附实验	(268)
七、膜片钳术	(269)

第六节	细胞及细胞器分离技术	(271)
一、	采用离心技术分离淋巴细胞	(272)
二、	流式细胞分选技术	(272)
三、	有限稀释法	(273)
四、	平皿克隆分离法	(274)
五、	软琼脂克隆分离法	(274)
六、	单细胞显微克隆	(275)
七、	细胞器分离技术	(276)
八、	应用实例——肿瘤细胞中 SP 细胞流式分选	(281)
第七节	细胞内化学成分的测定	(283)
一、	细胞内钙离子浓度测定	(283)
二、	细胞内药物浓度测定	(285)
附：	细胞模型应用实例	(287)
第七章	免疫学实验技术	(292)
第一节	概论	(292)
一、	抗原抗体反应的原理	(292)
二、	抗原抗体反应的特点	(292)
三、	抗原抗体反应的类型	(293)
第二节	沉淀反应	(293)
一、	环状沉淀反应	(294)
二、	单向琼脂扩散	(294)
三、	双向琼脂扩散	(296)
四、	火箭电泳	(297)
五、	对流免疫电泳	(298)
六、	免疫电泳	(299)
第三节	凝集反应	(300)
一、	直接凝集反应	(300)
二、	间接凝集反应	(301)
第四节	补体参与反应	(304)
一、	补体结合实验	(304)
二、	血清总补体活性测定 (CH50 单位测定)	(309)
三、	用于检测未知抗体的间接法	(310)
四、	化学发光免疫分析技术	(312)
五、	免疫胶体金标记技术	(314)
六、	生物素—亲和素技术	(316)
第五节	免疫细胞的分离与纯化	(318)

一、白细胞的分离与纯化	(318)
二、外周血的单个核细胞分离	(319)
三、外周血单核细胞分离	(322)
四、淋巴细胞的纯化与亚群分离	(323)
五、流式细胞术的免疫分析 (详见第六章)	(330)
六、应用实例——吸附分离法 (贴壁法) 分离外周血单核细胞	(332)
第六节 淋巴细胞的功能检测	(333)
一、T 淋巴细胞功能检测	(333)
二、B 淋巴细胞功能检测	(337)
第七节 NK 细胞活性检测	(342)
一、乳酸脱氢酶释放法	(342)
二、应用实例——YAC-1 细胞株作为靶细胞测定人 NK 细胞活性	(343)
第八节 吞噬细胞功能检测	(344)
一、中性粒细胞吞噬功能测定	(345)
二、人巨噬细胞吞噬功能检测	(346)
三、小鼠巨噬细胞吞噬功能测定	(347)
第九节 抗体的制备技术	(348)
多克隆抗体的制备及鉴定	(348)
附：直接免疫荧光法测抗原实例	(353)
第八章 系统生物学简介	(356)
一、系统生物学定义	(356)
二、系统生物学的研究原理及内容	(357)
三、系统生物学的研究方法	(358)
四、系统生物学在医学领域研究思路举例	(368)



第一章 生物医学试验方法策略

第一节 研究问题的提出和研究方法的确立

一、研究领域的发展

从事科研工作，首先需要通过阅读已发表的论文和与本领域的相关专家交流，从而明确自己研究工作的背景情况，了解本学科或本行业的发展状况，及所面临的主要的、关键的、重大的问题，学科发展或行业进步的方向；了解本领域的技术发展历程、现状和趋势，及其他研究者所做的工作、取得的成绩、存在的问题等，从而考察所研究课题的新颖性和被高质量出版发表的潜力。只有在充分掌握学科或行业方向，熟悉同行进展的基础上，才能提出一个具有重要意义、可持续发展、与他人工作没有重复的研究课题。

从事生物医学研究，必须熟知该领域的研究趋势和热点等问题，从而对进一步的科研工作带来启示和提供指导。生物医学是今后相当长时间内令人振奋的科技领域，许多国家在生物技术和生命科学研究上投入了大量的人力和物力。生物医学前沿领域的研究是基础理论创新和生物技术进步的基础，目前和将来相当长时间内研究的热点有以下几方面。

1. 生物医学前沿领域的研究热点

(1) 基因组 (Genome) 和后基因组 (Post genome) 研究：20 世纪末开始的人类基因组计划，完成了许多动植物和人类基因的测序，目前已初步明确人类基因约 39 000 个。目前基因组研究的热点，主要是确定基因的功能，确定所有基因及其表达谱，确定基因所编码的蛋白质空间结构等。

(2) 蛋白质组学 (Proteomics) 研究：蛋白质是生命活动的基本单元，蛋白质的空间构象也是其功能的基础。因此，在基因组研究的基础上，研究细胞或组织中所有蛋白质的空间结构，绘制人类蛋白质谱，对阐明生命活动和疾病起因有着极其重要的意义。

(3) 生物信息学 (Bioinformatics)：生物信息学是近年发展起来的一门新型学科，它用生物化学、信息技术和计算机技术综合处理庞大的生物医学数据，是运用数理方法、多学科交叉研究的结果。如人类基因的碱基对、核苷酸、蛋白质组，揭示它们之间的内部联系以及与疾病之间的关系。生物信息学不仅在生物医学研究上，同时在新药研究上也有广泛应用价值。

(4) 干细胞 (Stem cell) 研究：自从 20 世纪 90 年代美国科学家成功地培养了人胚胎干细胞后，干细胞定向分化及其调控等的研究成为生命科学的热点。对发育生物学及其相



关学科将起到突破性的推动作用，同时这一领域所具有的重大科学意义和医学及其商业价值必将是各国重点支持和开发的领域。

(5) 细胞信号转导机制 (Cellular signal transduction) 研究：生命活动是一个极其复杂的系统工程，只有通过系统活动的分析和研究，如细胞间的信号传导，才能破译生命活动的过程。因此，在复杂层面上研究细胞活动和信号转导机制是一个新的学科前沿。

(6) 神经科学研究 (Neuroscience)：大脑是人类最复杂的器官，认识大脑如何进行感知和认知是当今最具挑战性的科学问题。神经科学是近年来发展最快的学科之一，从分子、细胞和整体水平上对脑和神经系统进行综合研究是今后研究的热点领域，必将提高人类认识自我的能力。

2. 生物技术领域的研究热点

生物医学的快速发展是生物技术不断创新的结果，同时它也促进生物技术的不断进步和新方法新技术的不断涌现。生物技术的发展为生物医学研究提供了坚实的基础，在生物技术领域，目前的研究热点主要有以下几个方面。

(1) 高效基因转移体系的研究：随着人类基因组计划的完成和许多致病细菌、病毒基因序列的测定，疾病的基因治疗方法将会再度成为研究的热点。如将外源基因导入人体治疗各种肿瘤已经取得了一些突破，显示出良好的应用前景。建立安全、高效、稳定、可控的体内基因转移系统将是今后研究的热点。

(2) 生物芯片技术：生物芯片技术是近年发展起来的生命科学和医学领域最有力的分子检测工具，目前主要有 DNA 芯片和蛋白质芯片。它利用微点阵技术将成千上万的生物信息密码集中到一小片固相基质上，从而使一些传统的生物学分析手段能够在尽量小的空间范围内、以尽量快的速度完成。它在检测诊断、药物高通量筛选等方面具有广泛的应用前景，是未来产业化的重要方向。

(3) 组织工程技术和干细胞定向分化技术：器官移植是现代医学的重要课题之一，但供体器官的短缺是器官移植的最大障碍。利用组织工程技术的方法改造动物器官使之适应异种器官移植的要求是该领域的研究重点。干细胞定向的可控分化技术也是解决器官来源的方法之一，同时它有更广泛的临床应用价值，它是目前各国投入大量经费研究的热点。

(4) 基因定点敲除和敲入技术：建立和完善稳定、可靠的基因敲除和敲入技术是目前研究的热点之一，它在建立各种疾病动物模型进行理论研究以及疾病的基因治疗上有广泛的应用前景。

(5) 哺乳动物体细胞克隆技术：目前虽有克隆羊等成功的报道，但技术手段和方法仍存在许多不足，改进和完善体细胞克隆技术将是哺乳动物克隆能否真正成功的关键。该领域有着巨大的经济利益，也将是今后研究的热点。

(6) 其他：如纳米生物技术、无损伤成像技术、微型机器人在医学中的应用、疾病疫苗研发技术、基因工程酶研发技术等，由于具有广泛的市场前景，也是各个相关领域研究的重点。



3. 生物医学领域的发展趋势对科研的启示

生物医学的发展趋势主要有以下特点：一是分子生物学仍然是生命科学研究的主要方向。分子生物学的发展，带动了一批从细胞水平到分子水平的研究，出现了分子遗传学、分子细胞生物学、分子神经生物学等分支学科。二是生物学研究模式出现了跨国家单位的大学科趋势，这在人类基因组计划的实施中表现最为突出。三是随着基因组和蛋白质组研究的发展，生物医学研究的方法正从局部观到整体论上转变，回归到了对一个完整机体结构和功能的研究。四是多学科交叉研究更加重要和普遍，许多数、理的方法应用于生命领域的研究，诞生了如生物信息学等一批新型学科。五是许多现代工业领域的高新技术大量应用于生物医学的研究，促进了研究快速发展。六是生物医学的基础研究和应用研究结合越来越紧密，许多国家和商业机构将生物医药产业作为 21 世纪的重要经济增长点。

生物医学研究领域正成为各国高度重视和研发的重点是由其本身具有的重要的产业化市场前景和可能带来重大的理论突破所决定的，这对我们从事医学科研的科研工作者是一项极大的机遇和挑战。如何能在该领域有所作为，对于研究者自身应注意几个问题：第一，在选题上应紧密围绕生物医学领域的重大理论问题和热点问题，以及有市场价值的关键技术展开研究，要有针对性，目标明确。第二，在课题组织上不能只满足于单打独斗，应注意联合研究，集团作战；同时建立与其他学科和专业的科学家广泛联系，只有进行多学科交叉研究，才能更好更快地完成课题研究和开发。第三，由于生物医学研究中会不断创建新的技术方法或有新的理论发现，且大多有市场前景，应注意知识产权的保护，及时申请各项专利。

二、问题的提出

在熟悉了研究领域和科研背景后，就正式进入了科学研究工作。研究问题的提出是科学研究的第一步，也是最重要的一步。提出问题是科研能力中最核心的能力，因为发现一个值得研究的问题并以科学的语言提炼出来，是解决问题、得到结论、指导科学发展的前提和基础。问题的提出，是科研的第一步，为其后所开展的研究工作明确了方向，定下了基调。如果这一步做好了，其后的实验工作将事半功倍，较快地取得可用结果。如果问题提出错误，费了九牛二虎之力，得到一大堆数据，却解决不了问题。因此，科学界有一种说法是“正确地提出一个问题，就解决了一半”，另一个类似的说法是“科学研究的 50% 是寻找和发现问题”。对于研究生来说，研究问题的提出，就是学习期间所做的课题的选择。

提出一个研究问题又包括三部分内容：第一是明确所研究的问题——“是什么”；第二是明确研究这个问题的意义——“为什么”；第三是确定需要实现的目标——“干什么”。下面分别进行阐述。

科学研究的第一步是明确所研究的问题（what）。这是第一步，也是最重要的一步。正确的选题，应该具有重要的科学价值或现实意义，是本学科的基础性或前沿性问题，其



解决有助于本学科的科学发展和可以指导生产实践。这种问题的提出和解答具有重要的意义。科学研究的目的是为了更好地了解世界、改造世界，以推动社会的不断进步和发展。因此，选题必须紧密结合社会发展和学科进步的需要，以促进科学事业发展和解决现实存在的问题作为出发点和落脚点。

选题要符合科学研究的正确方向，要具有新颖性，有创新、有理论价值和现实的指导意义或推动作用，一项毫无意义的研究，即使花很大的精力，做再多实验，也将没有丝毫价值。例如热力学第二定律早已证明永动机不可能存在，再费尽心思地去开发永动机，就是浪费时间和金钱。具体地说，可从以下三个方面来选题。首先，要从现实中存在的问题来选题，用所掌握的专业知识，来寻找和解决工作实践中亟待解决的问题。其次，要从寻找科学研究的空白处和边缘领域中选题，科学研究领域还有许多没有被开垦的处女地，还有许多缺陷和空白，这些都需要填补，应有独特的眼光和超前的意识去思索，去发现，去研究。最后，要从寻找前人研究的不足和错误之处选题，在前人已提出来的研究课题中，许多虽已有初步的研究成果，但随着科学的不断发展，还有待于丰富、完善和发展，这种补充性或纠正性的研究课题，也是有科学价值和现实指导意义的。

选题时还要注意根据自己的能力选择切实可行的课题。科研不仅需要主观努力，同时还需要具备一定的客观条件。由于每个人的条件都是各不相同的，因此在选题时，还应结合自己的特长、兴趣及所具备的客观条件来选题。扬长避短，才可能在较短的时间内完成所选课题。由于现代出版业的发达，大部分科学知识都可以通过各种出版物获取而不需要到现场调查或当面请教。这对于研究生来说是一件好事，文献检索、阅读、总结的知识可以从专门的书籍中获取，很多学校有专门的文献查询课程或讲座。

明确“是什么”之后，就是“为什么”。“为什么”（why）是一个贯穿整个研究过程的问题。从选择研究问题开始，到实验设计、数据分析，每一步都要对自己提出“为什么”并进行回答。为什么要研究这个问题？为什么要采用这个方案？为什么要实现这个目的？为什么得到这些数据？为什么数据这样分析？等等。科学研究的每一步，都要问为什么，并且合理地回答为什么，不能简单地拍拍脑袋，提出一个想法，或是人云亦云，搞不清来龙去脉。在本章中我们强调选题过程中的“为什么”。硕士生与博士生答辩的第一部分都是问题的提出，也就是研究什么问题和为什么研究（what&why），博士研究生答辩时对这个问题的通常讲得比较清楚，而很多硕士研究生一直到毕业答辩时，还不能用自己的言语表达自己在两年内所做的课题是个什么东西以及为什么要做。问题的提出，其实是研究生学习的核心。博士生培养的过程，就是提出问题能力培养的过程，一个合格的博士毕业生，必须具备提出问题并回答“为什么”的能力，只有具备了这个能力，才能独立地开展高水平的科学研究，并指导其他人进行研究。硕士研究生以这个标准来要求无疑是过高了，但也必须了解问题提出的重要性，也就是能够提出问题并回答“为什么”。

三、提出问题的假说或理论

问题提出之后，就进入下一个环节，即提出问题的假说或理论。假说是对科学上某一



领域提出新问题，并对这个问题提出未证实或未完全证实的答案和解释。

1. 科学假说的提出与建立

(1) 科学假说的显著特点：a. 假说是以观察实验搜集的事实材料为基础，以科学知识为依据，所以它具有科学性；b. 假说是对事物存在的原因及规律所做的某种推测性的说明和解释，决定了任何假说都必然带有猜测的性质。

(2) 科学假说的形成与建立应具备的条件：a. 要具有标新立异的特点；b. 重视科学探索中的机遇；c. 要有综合性，扩大知识面；d. 及时提出新的假说；e. 假说的内容或推出的结论不应包含逻辑矛盾；f. 具有科学原理。

2. 假说的作用及地位

(1) 假说的作用：a. 假说使人们为达到某种结果而有计划地进行各种观察和实验，是科学研究中的重要步骤和基本程序；b. 假说是从观察的事实出发，通过概念、判断、推理对所探索的问题提出初步的、推断性的带有假定意义的理论解释；c. 假说是发现、认识事物内部规律、建立新的科学理论必须经历的一个重要阶段和不可或缺的形式与方法；d. 假说是任何科学理论的初始阶段；e. 假说是人们认识科学理论的桥梁；f. 假说是未经实践验证的理论；g. 假说是人们从个人或前人的实践经验、科学积累中通过分析和综合，对所选课题可能得到的预期结果的解释；h. 假说是来源于实践中得到的事实或理论；i. 假说是对被研究问题的规律性认识的推测。

(2) 假说的地位：观察和实验是科学发展的基础，假说是科学发展的形式。恩格斯曾经说过，“只要自然科学在思维着，它的发展形式就是假说”。因此，假说是科学研究的主线。观察和实验是科学躯体，假说和理论是科学的灵魂，贯穿于整个科研过程中。科学研究的全过程就是提出假说和验证假说的过程，所有的工作程序紧紧围绕着这条主线有次序地、有要求地严格进行安排。

四、研究方向的界限

研究方向的确定有两个原则：一是有效性，二是可行性。也就是说，研究方向必须有用，而且在研究时间、经费、实验条件的允许范围内可以实现目标。研究方向和专业目标的确定非常重要，主要体现在以下两方面：第一，从战略上看，科研方向和专业目标决定了科研选题的方向与范围，同时科研方向和专业目标是培养与造就专家与学者的有效途径；第二，从战术上看，确定科研方向和专业目标对科研方法的选择有直接的影响。

在开始科研工作进入课题前，需要对研究方向有正确的标定。现有的每一项成熟技术，都是数代乃至数十代科研工作者和工程师们持续不断的努力而逐渐形成和优化的。成熟技术有其局限性和缺点，但也必然有着很强的优势和稳定性，才能成为广泛应用的成熟技术。在实验科学中，任何一项新的技术都是在成熟技术的基础上发展起来的。必须给予成熟技术和前辈研究者足够的尊重。立志超越前人是正确的，如果认为在两三年的研究生学习阶段就一定可以超越前人，做出前无古人、后无来者的发明，对于绝大多数学生来