



基础医学

实验技能与技术丛书



JICHU YIXUE SHIYAN JINENG YU JISHU CONGSHU



主编 赵金茹 孙宏伟

基础医学 实验基本技能

JICHU YIXUE
SHIYAN
JIBEN JINENG



中国医药科技出版社

第2版 2015年12月第1次印刷



基础医学 实验基本技能

基础医学 实验基本技能

• 基础医学实验技能与技术丛书 •

基础医学

实验基本技能

 中国医药科技出版社

内 容 提 要

本书以医学实验中涉及到的基础技能为主要内容,培养学生掌握标准规范的操作方法。本书共四章,另一章为医学实验中通用的实验技能,第二至四章分别为机能学实验、形态学实验、生物技术实验基本技能。本书适合医学专业不同层次学生、实验室相关人员使用。

图书在版编目(CIP)数据

基础医学实验基本技能/赵金茹,孙宏伟主编. —北京:中国医药科技出版社,2009.9
(基础医学实验技能与技术丛书)

ISBN 978 - 7 - 5067 - 4264 - 1

I. 基… II. ①赵… ②孙… III. 基础医学-实验-中医学院-教材 IV. R3 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 149361 号

美术编辑 陈君杞

版式设计 郭小平

出版 中国医药科技出版社

地址 北京市海淀区文慧园北路甲 22 号

邮编 100082

电话 发行:010-62227427 邮购:010-62236938

网址 www.cspyp.cn

规格 787 × 1092mm $\frac{1}{16}$

印张 13

字数 251 千字

版次 2009 年 9 月第 1 版

印次 2009 年 9 月第 1 次印刷

印刷 北京金信诺印刷有限公司

经销 全国各地新华书店

书号 ISBN 978 - 7 - 5067 - 4264 - 1

定价 26.00 元

本社图书如存在印装质量问题请与本社联系调换

丛书编委会

主 编 石 岩

副主编 刘庚祥 易 杰 陈 雷

委 员 关洪全 陈以国 刘春英 马铁明

王德山 蔡玉文 姜 欣 李曦明

编写说明

实验教学是培养创新型人才的必要途径。实验技术是保障实验教学和科学研究工作顺利进行的基本条件,也是学生动手能力和创新思维培养的基础。为了更好地贯彻落实“教育部 2008 年工作要点”及“中医药科学研究发展纲要(2006~2020 年)”的精神,结合国家实验教学示范中心的建设要求,本着“厚基础、宽口径、重能力、重创新、突出中医药特色”的指导思想,我们对中医学类专业实验课程进行了新的改革与创新,构建了适合于不同阶段学生学习的“两个系列,三个层次”的实验课程体系,将中医学类专业实验课分为技术类实验课程和专业基础类实验课程两个系列,并在国内率先按照课程体系设置,组织编写配套实验技术类系列教材。基础医学实验技能与技术丛书,从规范学生实验室行为和强化基本实验技能的掌握程度入手,旨在提高学生实践动手能力,培养学生创新思维,切实地提高实验教学质量。

1. 指导思想 紧密地围绕培养目标,突出特色,注重实际,强调技术,重视原理,淡化项目,关注应用,体现科学规范性和简明扼要性。遵循认知规律,依据由浅入深,由易到难的原则,遵照由提高动手能力到培养创新思维的宗旨设置教材内容。

2. 建设目标 建设一整套符合实验教学实际、相互衔接和相互辅助的实验系列教材,为培养具有中医思维、掌握现代科学技术的创新型人才提供保障、奠定基础。

3. 编写特色 以往的中医学类专业实验课程教材都是按着专业课程编写,学生在学习相关专业理论课程的同时,完成相应实验课程的教学内容。本系列教材按着技术类实验课程体系专门编写实验课程的教学内容,将医学基本实验技术如实验动物基本技术、实验操作基本技能、常用仪器设备使用及专业基础实验技术训练等内容进行整合,使学生通过此套系列教材了解实验室概况、实验室安全操作、动物实验基本技术、实验基本技能、仪器设备使用方法及注意事项等内容,从而使学生掌握标准的基础实验技术和专业基础实验技术。学生在进



行专业课程学习前首先完成基础实验技术的学习,为学习专业基础和专业方向实验技术打下扎实的基础,避免在专业实验课程中重复学习基本实验技能的不合理情况。目前此类医学实验系列教材在全国尚属首创。

本系列教材的全体编者衷心感谢各位主审及主创人员的辛勤劳动。感谢被引用的各种参考文献的作者,是他们的研究成果奠定了本系列教材的编写基础。在本系列教材的编写过程中,得到了中国医药科技出版社和辽宁中医药大学各级领导及基础医学实验技能与技术丛书编委会的大力支持,在此表示衷心地感谢!同时也要感谢各位编者的大力支持与真诚合作。

我们相信本系列教材的出版将进一步促进我国中医药类及其他医学院校实验教学的改革和研究,为更好地满足社会需求,培养新一代的具有动手能力及创新思维的医学人才做出贡献。

限于本系列教材编者的经验和水平,谨请使用本系列教材的教师及学生对教材在内容和文字上的种种缺陷和错误提出批评。

丛书编委会

2009年5月

前 言

医学是一门实践性很强的科学，搞好实验教学是提高教学质量的关键环节。医学专业学生的培养目标首先就是要对学生进行医学基本实验技能的培训，使理论教学与实验教学密切结合。根据实验课程体系改革的总体要求，保证学生掌握标准的基本实验技能，避免在各专业基础实验课程学习中对基本实验技能的重复培训，保证实验教学质量，提高实验教学水平，以便更好地学习专业基础类实验课程而编写本书。

本课程与各学科实验课程联系十分紧密，基本实验技能是病理学、细胞生物学、组织胚胎学、生理学、药理学、生物化学、分子生物学、免疫学、病原生物学等实验课必备的实验技能，只有扎实的掌握这些基本技能，才能在专业实验技能的学习中得心应手。

本书侧重点有两个：一是基础；二是标准。本书以医学实验中涉及到的基础技能为主要内容，着重对学生基本技能的培训。另外，要求学生掌握标准的操作方法，养成用规范的操作技能完成实验的好习惯。基于以上两点，本书内容设置主要有四章：第一章，医学实验中通用的实验技能，这些技能无专业界限，各专业均能用到。包括医学实验中常用的手术器械及玻璃仪器的认识与使用，玻璃器皿的清洁及保存技能，常用溶液的配制技能，离心操作技能，实验数据的处理技能，实验报告的书写，实验意外的处理技能等。第二章，机能学实验基本技能，该部分以机能学实验过程中涉及到的基本技能为主，包括实验动物的固定、备皮、麻醉技能，实验动物手术的基本操作技能，离体实验标本的制备技能等。第三章，形态学实验基本技能，包括显微镜使用技能，液体涂片及组织切片制备技能，液体涂片及组织切片的染色技能等。第四章，生物技术实验基本技能，包括微生物学实验基本技能，细胞培养操作技能，分光光度技能，电泳操作技能，PCR 操作技能等。

本书适合医学专业不同层次的学生，可根据教学时数和教学要求的不同对内容进行适当取舍。

限于编者的经验和学术水平有限，书中尚存在不足之处，敬请批评指正。

编 者

2009.5

第一章 基础医学综合实验技能	1
第一节 实验室守则	1
第二节 常用器械与玻璃仪器操作技能	2
第三节 玻璃仪器的清洗与储存	11
第四节 常用溶液的配制	12
第五节 离心技术操作技能	24
第六节 实验数据处理与实验报告书写	28
第七节 实验意外现象与实验结束后物品的处理	32
第二章 机能学实验基本技能	35
第一节 实验动物准备	35
第二节 实验动物常用手术基本操作	38
第三节 离体实验的标本制备	52
实验一 阈刺激、阈上刺激和最大刺激	56
实验二 骨骼肌的单收缩和复合收缩	58
实验三 蛙心起搏点的分析	59
实验四 期前收缩与代偿间歇	60
实验五 影响心脏活动的体液因素	62
实验六 家兔动脉血压的调节	64
实验七 家兔呼吸运动的调节	66
实验八 影响尿生成的因素	69
第三章 形态学实验基本技能	73
第一节 显微镜的使用技能	73
第二节 涂片的制作与染色	81
第三节 石蜡切片的制作方法	91
第四节 冷冻切片的制作方法	103
第五节 组织切片的染色方法	105
第六节 几种特殊染色方法	112
实验九 血涂片的制作及瑞氏染色	117



第四章 生物技术实验基本技能	119
第一节 病原生物学实验基本技能	119
第二节 细胞培养技术	139
第三节 分光光度技术	168
第四节 常用电泳方法	170
第五节 PCR 技术	176
第六节 ELISA 技术	186
实验十 显微镜直接计数法	193
实验十一 溶液的配制及 pH 调节	194
实验十二 中药汤剂的制备与剂量核算	196
实验十三 消毒灭菌与无菌操作技术	197

基础医学综合实验技能



记录

第一节 实验室守则

实验室是进行实验教学和科学研究的重要场所，为加强管理，提高实验教学质量的质量和科研水平，进入实验室进行实验的学生必须严格遵守以下守则。

1. 学生在实验前必须认真预习实验讲义或实验指导书上相关内容，明确实验目的和基本要求，掌握实验的原理、方法、步骤，了解有关仪器的性能配置，熟悉其操作规程及安全注意事项。

2. 学生必须按时到指定实验室进行实验，不得迟到、早退、旷课，衣冠不整者不得进入实验室，进入实验室必须穿白大衣，不准把与实验课无关的东西带入实验室。

3. 学生进入实验室做实验必须严格遵守实验室的规章制度，服从授课教师和实验技术人员的指导，在指定的地点进行实验；保持实验室内清洁、安静，不许吸烟、随地吐痰、乱扔纸屑及其他杂物。

4. 实验前应核对自己所用的仪器设备、玻璃器皿、消耗性材料和药品等，如有问题立即向指导教师报告，一切准备工作就绪后，必须经指导教师同意方可动用仪器设备进行实验。

5. 实验过程中要严格遵守操作规程，正确操作，细心观察，真实记录实验数据的结果。学生应以组为单位独立完成实验，不得抄袭它组数据，如发现将严肃处理。

6. 实验过程中要注意安全，遵守实验室内有关安全的制度。出现意外事故时要保持镇静，并迅速采取措施，防止事故扩大，并注意保护现场，及时向指导教师报告。

7. 实验过程中，要爱护仪器设备，不得自行拆卸，不得私自调换；节约用水、电和实验材料。不许动用与本节实验内容无关的仪器设备及其他物品，不准私自将公物拿出实验室。如发现仪器设备发生故障或损坏时，应及时报告指导教师处理，查明原因。

8. 凡损坏仪器设备、器皿者，应主动说明原因并接受检查，填写报损单，由指导教师根据情况（自然损坏除外），按照相关规定赔偿；对违反操作规程或



擅自用其他设备造成损坏者,当事人必须写出书面检查报告,由实验指导教师和实验室负责人视情节轻重、损失大小,按相关规定做出处理意见,报学院和学校审批后,分别给予批评教育、经济处罚、行政处分直至追究法律责任。

9. 实验完毕,应做好仪器设备的复位工作以及关闭仪器设备及水、电等,清洁实验台面和仪器设备,打扫室内卫生并得到实验指导教师允许方可离开实验室。

第二节 常用器械与玻璃仪器操作技能

一、常用手术器械的操作技能

(一) 蛙类手术器械操作技能

1. 蛙类手术器械简介

蛙类手术器械包括:铁剪刀、眼科剪、外科镊、眼科镊、蛙针(金属探针)、玻璃分针(玻璃钩)、锌铜弓、蛙心夹、培养皿、蛙板或玻璃板等。

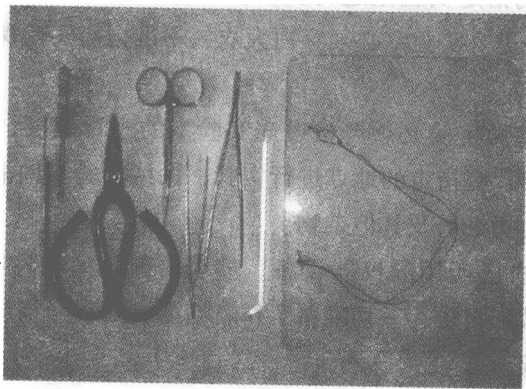


图 1-1 蛙类手术器械

2. 各种蛙类手术器械的使用方法

(1) 剪刀 铁剪刀又称粗剪刀,用于剪蛙类骨骼肌肌肉和皮肤等粗硬组织;眼科剪刀用于剪神经和血管等细软组织;组织剪刀用于剪肌肉等软组织。

(2) 镊子 圆头镊用于夹捏组织和牵拉切口处的皮肤(因圆头镊对组织的损伤性小);眼科镊用于夹捏细软组织。

(3) 金属探针 用于破坏蛙的脑和脊髓。

(4) 玻璃分针 用于分离神经和血管等组织,以减轻对其兴奋性的影响。

(5) 锌铜弓 用于对神经肌肉标本施加刺激,以检查其兴奋性。

(6) 蛙心夹 使用时将一端夹住心尖,另一端借缚线连于张力换能器,以描记心脏活动。

(7) 蛙板 约为 $20\text{cm} \times 15\text{cm}$ 并有许多小孔的木板, 用于固定蛙体以便进行实验。可用蛙钉或大头针将蛙腿钉在木板上。如制备神经-肌肉标本, 应在清洁的玻璃板上操作。为此可在木板上放一块适当大小的玻璃板。使用时, 在玻璃板上先放少量任氏液, 然后把去除皮肤的蛙后肢放在玻璃板上分离、制作标本。

(8) 培养皿 盛放任氏液, 可将已做好的神经-肌肉标本置于此液中。

(二) 哺乳类动物手术器械操作技能

1. 哺乳类动物手术器械简介

哺乳类手术器械通常包括: 手术刀、外科剪、外科镊子、止血钳、骨钳、颅骨钻、动脉夹、气管插管、血管插管、三通开关, 有时用到缝合针线和持针器等。

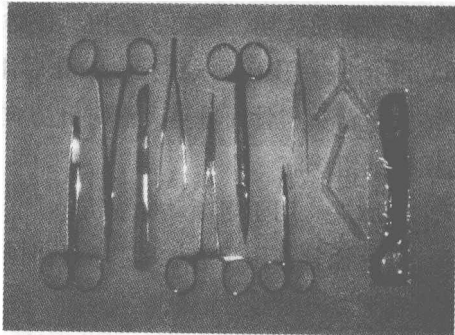


图 1-2 哺乳类动物手术器械

2. 哺乳类动物手术器械的使用方法

(1) 手术刀 包括刀柄和刀片。用于切开和解剖组织。持刀方法有 4 种: 执弓式、指压式、执笔式和上挑式 (如图 1-3)。前两种用于切开较长或用力较大的切口; 后两种用于较小切口, 如解剖血管、神经等组织。

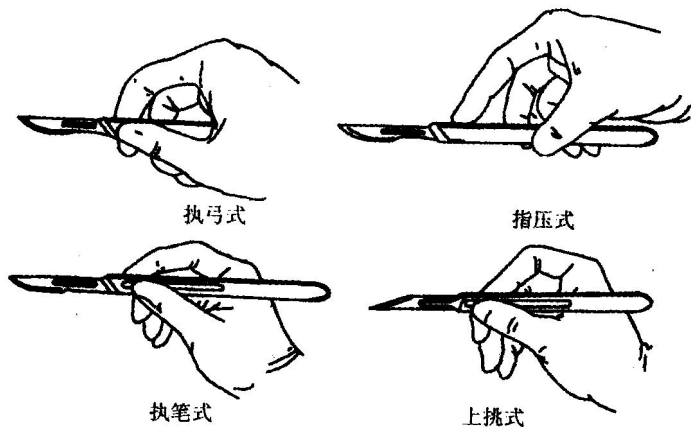


图 1-3 四种持刀方法

(2) 外科剪 弯手术剪用于剪毛; 直手术剪用于剪开皮肤和皮下组织、筋膜和肌肉等; 眼科剪用于剪神经、血管或输尿管等。持剪方法如图 1-4。



图 1-4 持剪方法



记录



(3) 外科镊子 夹捏较大或较厚的组织和牵拉皮肤切口时使用圆头镊子；夹捏细软组织用眼科镊子。

(4) 止血钳 用于钳夹血管或出血点以止血或用于钝性分离组织、带引缝线等。止血钳有各种大小型号。用于分离小血管及神经周围的结缔组织等。持钳法同持剪法。

(5) 骨钳 用于打开颅腔和骨髓腔。可按动物大小选用相应型号。使用时，使钳头稍仰起咬切骨质。切勿撕拉、拧扭，以防残骨损伤骨内组织。

(6) 颅骨钻 用于开颅钻孔。钻孔后用骨钳扩大手术范围。用法为右手握钻，左手固定钻头，钻头与骨面垂直，顺时针方向旋转，到内骨板时要小心慢转，防止穿透骨板而损伤脑组织。

(7) 动脉夹 用于阻断动脉血流。

(8) 气管插管 用于急性动物实验时插入气管，以保证呼吸道通畅。另一端接呼吸换能器或压力换能器可记录呼吸运动。

(9) 血管插管 用于动脉、静脉插管。血管插管可用16号输血针磨平针头或相应口径的聚乙烯管代替。实验时一端插入动脉或静脉，一端接压力换能器以记录血压。插管时，管腔内应排出任何气泡，以免影响实验结果。

(10) 三通开关 可按实验需要改变液体流动的方向，便于静脉给药、输液和描记动脉血压。

二、实验室常用玻璃仪器

(一) 试 管

1. 试管的分类与应用

试管分普通试管、具支试管、离心试管等多种。

(1) 普通试管 规格以外径(mm)×长度(mm)表示，如10mm×100mm，为小试管，一般收集可燃性气体验纯用；15mm×150mm，一般溶液反应用这个型号；20mm×200mm，溶液反应用，但用的较少；25mm×200mm、30mm×300mm，发生装置，例如制取氧气、氢气的简易装置等。

(2) 具支试管 反应容器。

(3) 离心试管 离心沉淀用。

(4) 硬质石英试管 高温加热用。

2. 试管使用方法和注意事项

(1) 普通试管可以直接加热，加热前先将试管外壁水擦干。

(2) 装溶液时不超过试管容量的1/2，加热时不超过试管的1/3。

(3) 加热时须用试管夹，试管夹从试管底部向试管口套进，取的时候也从试管下部取出，夹在试管口中上部（接近试管口1/3）。

(4) 加热时先让试管均匀受热，然后在试管底部集中加热，并不断移动试管。试

管应倾斜约 45° ，管口不要对着自己或他人。

(5) 向试管中倾倒液体，每次只能拿一个试管，但几个试管对比时，可以几个同时拿在手里（用大拇指和手掌）。

(6) 振荡试管时，拇指、食指、中指拿住试管，用力振荡，手腕使劲而不是摆臂。因试管里的液体受的是离心力，故不会飞溅出来。

(7) 加热完的试管不能马上放入试管架，防止烫坏试管架。

(8) 清洗试管可以直接用清水振荡，也可以用试管刷。如果有必要须沾洗衣粉来刷。根据实验所用的药品，也可以选用酸、碱、酸性重铬酸钾洗液来清洗。清洗后的试管，内壁不应挂有水珠。

(二) 移液管和移液器的使用

1. 移液管与移液器的分类与应用

移液管又叫刻度吸管，是实验中最常用的量器，实验结果的准确程度与能否正确使用吸管有密切关系。因此必须正确掌握使用方法，熟悉各种吸管的规格，正规操作。常用的移液管有 1、2、5、10ml 等，也有 0.1、0.2、0.5、0.01、0.05ml 等微量移液管。移液器与移液管功能相同，使用相对更加方便，其不同规格有各自量程（图 1-5，图 1-6）。

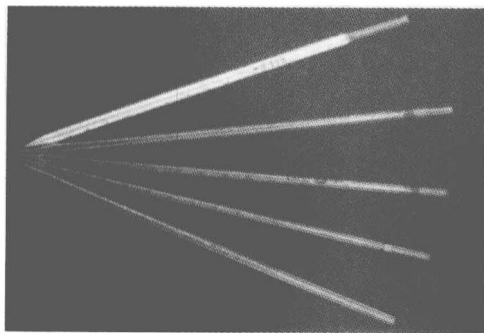


图 1-5 吸管

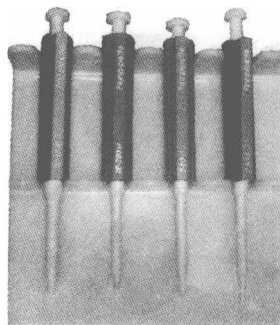


图 1-6 移液器

2. 移液管使用方法与注意事项

(1) 执管 将中指和拇指拿住移液管上口以示指控制流速；应让刻度数字朝向操作者。

(2) 取液 把移液管插入液体内（切忌悬空，以免液体吸入洗耳球内），用洗耳球吸取液体至所取液量的刻度上端 1~2cm 处，然后迅速用示指按紧移液管上口，使管内液体不再流出。

(3) 调准刻度 将已吸足液体的移液管提出液面，用滤纸片抹干管尖外壁液体，然后垂直提起移液管于供器内口（管尖悬离供器内液面）。用示指控制液流至所需刻度，此时液体凹面、视线和刻度应在同一水平面上，并立即按紧移液管上口。



记录



(4) 放液 放松示指, 让液体自然流入受器内 (如移液管标有“吹”字, 则应将管口残余液滴吹入受器内), 此时, 管尖应接触受器内壁, 但不应插入受器内的原有液体之中, 以免污染吸量管及试剂。

(5) 洗涤 吸取血液、尿、组织样品及黏稠试剂的移液管, 用后应及时用自来水冲洗干净。如果吸取一般试剂的移液管可不必马上冲洗, 待实验完毕后, 用自来水冲洗干净。晾干水分, 再浸泡于铬酸洗液中, 数小时后, 再用流动水冲净, 最后用蒸馏水冲洗。晾干备用。

附: 枪式移液器的使用

枪式移液器也是一种移取微量液体的工具。

其内部柱塞分2段行程, 第1档为吸液, 第2档为放液。

使用方法: 调体积选取钮至所需值; 套上枪头; 垂直持握枪式移液器外壳, 按下拇指至第一档; 将枪头插入溶液, 徐徐松开大拇指, 使其复原; 排放时, 大拇重新按下, 至第一档后, 继续按至第二档排空。

注意: 移液过程应控制速度、力度。

(三) 培养皿

培养皿因制作材料以及规格不同而种类繁多 (图1-7), 但用途基本相同, 常用来培养细菌、真菌、细胞等。

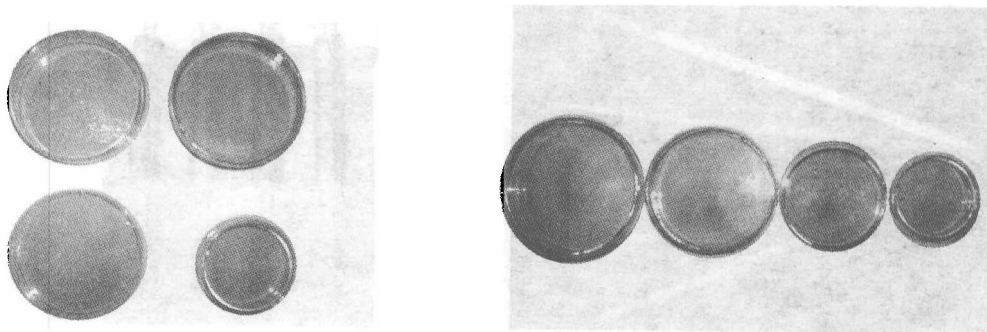


图1-7 培养皿

1. 培养皿的分类与应用

(1) 根据材质分类 分为玻璃培养皿和塑料培养皿。

①玻璃培养皿 主要用于细菌培养、真菌培养、细胞培养等, 使用前须进行灭菌。玻璃培养皿的优点是灭菌条件简单, 操作起来更容易, 并且可重复利用, 成本低, 节约能源, 使用后不产生垃圾; 缺点是玻璃制品易碎, 反复刷洗增加了工作量, 灭菌过程人为因素干预较大, 常因操作不规范而达不到理想效果。玻璃培养皿具体使用方法如下:

包装: 如果用来培养细菌或真菌, 将清洗干净的培养皿用牛皮纸包装, 每10块一组; 如果用来培养细胞, 包装前要进行特殊的清洗, 详见“玻璃仪器的清洁与储存”。然后再用锡箔纸将培养皿包好, 每个培养皿独立包装。

干烤灭菌：由于玻璃材料耐高温，故培养皿灭菌一般采用干热的方法，160~170℃持续加热1~2h就可以达到灭菌的目的了。

加入培养基：一般细菌、真菌培养所采用的多为固体培养基，需在高温高压灭菌后未凝固前倾倒入培养皿内，根据培养皿的大小确定倒入培养基的量；而细胞培养液为液态，所以直接将调整好浓度的细胞悬液在无菌操作台中倒入培养皿，加盖后放入培养箱就可以了。

清洗：培养细菌、真菌后的培养皿需在高压锅内灭菌后，弃掉废液，之后才能进行刷洗，培养细胞的培养皿可倒掉培养液直接刷洗。

②**塑料培养皿** 塑料培养皿又叫一次性塑料培养皿，优点是无需灭菌（出厂时已经过灭菌处理），不易碎裂，使用方便，能节约大量人力；缺点是成本过高，浪费塑料资源，废品处理时再次产生塑料垃圾。塑料培养皿的使用方法和玻璃培养皿基本相同，只是节省了灭菌步骤。

(2) **根据规格分类** 培养皿的规格参数主要指培养皿的直径和深度，一般表示为“直径（mm）×深度（mm）”形式。常用的有90mm×18mm、70mm×15mm、60mm×15mm、35mm×10mm等规格。下面介绍一下不同规格的培养皿在具体实验中的应用。

①**90mm×18mm：**这种规格的培养皿多用于培养细菌或真菌。当细菌、真菌的培养用量很大，或做细菌、真菌的分离培养实验时，常用到这种直径较大的培养皿。优点是可利用面积大，一次培养获得的培养物量大，用于分离细菌或真菌时，易于操作，分离结果理想。

②**60mm×15mm：**多用于实验教学。

③**35mm×10mm：**多用于细胞培养，由于面积小，可以减少样品被污染的几率。

2. 培养皿使用注意事项

(1) 玻璃培养皿为易碎品，使用时需轻拿轻放，以免打碎伤人。

(2) 培养皿的消毒灭菌是培养皿使用过程中的关键步骤，灭菌条件要达标，操作要严格。

(3) 一次性培养皿虽使用方便，但废品处理较为麻烦，务必规范处理，以免将方便变为污染。

(四) 烧瓶与烧杯

1. 烧瓶的应用与注意事项

烧瓶用于试剂量较大而又有液体物质参加反应的容器，可分为圆底烧瓶、平底烧瓶和蒸馏烧瓶。它们都可用于装配气体发生装置。蒸馏烧瓶用于分离互溶的沸点不同的物质。常见规格有：250ml、500ml、1000ml。

使用注意事项：



记录