



基础医学

实验技能与技术丛书



JICHU YIXUE SHIYAN JINENG YU JISHU CONGSHU



主编 王 淳

基础医学 实验技术

JICHU YIXUE
SHIYAN
JISHU



中国医药科技出版社

基础医学实验技术



基础医学实验技术

基础医学 实验技术

• 基础医学实验技能与技术丛书 •

基础医学实验技术

基础医学实验技能与技术丛书
中国医药科技出版社, 2009.9

(9) 基础医学实验技能与技术丛书

主 审 刘春英

副主编 贾连群 王 旭

编 者 (以姓氏笔画为序)

王 旭 王 淳 王艳杰

刘慧慧 贾连群 高 原

内 容 提 要

本书主要介绍现代生物、医学研究领域的新技术和新方法。本书共三篇九章四十四个实验。上篇为机能学技术篇,包括离体组织器官实验等内容。中篇为形态学技术篇,包括组织切片染色技术、细胞培养等技术。下篇是生物技术篇,包括蛋白质、核酸、细胞工程技术等。本书可供医学院校、综合性大学学生和从事生物学、医学研究人员使用。

图书在版编目(CIP)数据

基础医学实验技术/王淳主编. —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 - 4266 - 5

I. 基… II. 王… III. 基础医学-实验-医学院-教材 IV. R3 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 149363 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](http://www.cspyp.cn)

规格 787 × 1092mm 1/16

印张 7 1/4

字数 127 千字

版次 2009 年 9 月第 1 版

印次 2009 年 9 月第 1 次印刷

印刷 北京市松源印刷有限公司

经销 全国各地新华书店

书号 ISBN 978 - 7 - 5067 - 4266 - 5

定价 15.00 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

21 世纪是生命科学的世纪，人们很难想象生命科学这辆飞速前行的列车其速度有多快。生物技术方法好比是列车的车轮，设计再好的列车，没有车轮是不可能行进的。

现代医学的教学、科研工作，同样离不开新技术新方法的建立与发展。现代医学教育不仅要求学生要有较高的理论水平，还要有实践能力，思维、创新能力，更重要的还要紧跟现代生物学、医学的发展，以提高解决现代医学新问题的能力。为此，我们编写了本书。本书主要介绍现代生物学、医学研究领域的新技术和新方法，同时注重理论指导实践。本书从人才培养体系整体出发，建立以能力培养为主线，分层次、多模块、多学科相互衔接的实验教学体系，与理论教学既有机结合又相对独立；与科研工作和临床实践密切联系又相互配合，形成良性互动，实现基础与前沿、经典与现代的有机结合。本书改良了传统的实验教学模式，鼓励和探索多元化的实验考核方法，以适应培养学生创新能力的需要，推进学生自主学习、合作学习和研究性学习，提高学生的整体综合素质。

本书分为三篇，共十二章。上篇为机能学技术篇，是将生理学、病理生理学、药理学三门课程的实验内容有机结合在一起所形成的一门独立、完整、系统的实验技术课程，包括离体组织器官实验、在体动物实验、机能学综合实验、中医药机能实验基础等内容。中篇为形态学技术篇，是从形态学的角度进一步加强学生学与用的结合、理论与实践的结合、基础与临床的结合，主要包括人体解剖学、病理学、组织胚胎学、细胞生物学的实验技术内容，涉及到组织切片染色技术、细胞培养、组织化学染色、细胞化学染色、细胞凋亡检测等技术。下篇是生物技术篇，是生物化学和分子生物学实验的有机结合，主要涉及到蛋白质检测技术、核酸检测技术、细胞工程技术等。本书着重强调理论与实践相结合，对每个实验项目的实验原理与应用、实验用品、实验操作及注意事项都有充分的阐述。

本书适用于医学院校、综合性大学本科生和研究生的实验课教学，也可作为从事生物学、医学教学和科研人员的参考。

限于编者水平有限，书中错误疏漏之处在所难免，请广大读者批评指正。

编者

2009 年 5 月

目 录

上篇 机能学技术篇

记录

第一章 机能学实验概述	3
第二章 机能学实验技术	5
第一节 离体组织器官实验技术	5
实验一 离体小肠平滑肌灌流实验	5
实验二 促凝血药及抗凝血药实验	7
实验三 药物及生物活性物质对豚鼠离体气管条的作用实验	9
第二节 在体动物实验技术	10
实验四 心血管活动的神经体液调节实验	11
实验五 呼吸运动的调节及药物对呼吸运动的影响实验	13
实验六 尿生成的影响因素实验	16
第三节 机能学综合实验技术	18
实验七 家兔急性失血性休克实验	18
实验八 家兔急性呼吸窘迫综合征实验	21
实验九 小鼠不同类型缺氧实验	24
实验十 家兔水肿模型的制备及利尿药的应用实验	26
第四节 中医药机能实验基础	28
实验十一 柴胡注射液对发热家兔的解热作用实验	28
实验十二 鱼腥草对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响实验	29
实验十三 紫菀对小白鼠的止咳作用实验（二氧化硫引咳法）	30
实验十四 远志对小白鼠的化痰作用实验（气管段酚红分泌法）	32

中篇 形态学技术篇

第三章 形态学实验概述	37
第四章 组织形态学技术	39
第一节 石蜡切片制作技术	39



实验十五 石蜡切片制作技术	39
实验十六 冰冻切片制作技术	42
第二节 组织切片染色技术	44
实验十七 组织学常规染色技术——HE 染色技术	44
实验十八 常用的特殊染色技术——瑞氏染色法	46
实验十九 常用的特殊染色技术——过碘酸 - 雪夫反应	48
实验二十 免疫组织化学染色技术——亲和免疫组织化学 SABC 染色方法	49
实验二十一 免疫荧光组织化学染色技术——直接荧光法	51
实验二十二 免疫荧光组织化学染色技术——间接免疫荧光法	53
第五章 细胞生物学实验技术	55
第一节 细胞培养相关技术	55
实验二十三 新生大鼠肝细胞的原代培养 (消化法)	55
实验二十四 贴壁细胞的传代培养	56
实验二十五 悬浮细胞的传代培养	57
实验二十六 细胞的冻存	58
实验二十七 细胞的复苏	59
第二节 细胞生长状况的分析技术	60
实验二十八 细胞生长曲线的测定	61
实验二十九 细胞同步化实验 (血清饥饿法)	62
实验三十 MMT 技术对贴壁细胞生长活性的检测	62
第三节 细胞化学染色技术	64
实验三十一 Giemsa 染色实验	64
第四节 细胞凋亡检测技术	65
实验三十二 荧光显微镜检测细胞凋亡技术——EB 与 AO 双染色法	65
实验三十三 透射电子显微镜检测细胞凋亡	67
实验三十四 琼脂糖凝胶电泳技术——DNA 梯状条带的检测	68
实验三十五 流式细胞仪检测细胞凋亡技术	70

下篇 生物技术篇

第六章 生物技术实验概述	75
第七章 细胞工程技术	77
第一节 细胞融合技术	77

实验三十六 PEG 诱导细胞融合	78
实验三十七 病毒诱导细胞融合	79
第二节 DNA 转染技术	81
实验三十八 磷酸钙转染法	81
实验三十九 脂质体介导的转染法	82
第八章 分子生物学技术	84
第一节 核酸技术	84
实验四十 质粒 DNA 的提取与检测技术	84
实验四十一 PCR 技术	86
实验四十二 逆转录 PCR (RT-PCR) 技术	88
实验四十三 Southern 印迹杂交技术	90
第二节 蛋白质技术	92
实验四十四 免疫印迹技术	92
第九章 现代医学前沿技术	97
第一节 蛋白质组学技术	97
第二节 生物芯片技术	99
第三节 RNA 干扰技术	101



记录

上篇

机能学技术篇



S H A N G P I A N

第一章

机能学实验概述



记录

学习目的和要求

1. 目的 了解机能学的基本知识。
2. 要求 熟悉机能学的基本教学内容和学习目的。

医学是研究健康和疾病的科学，其最终目的是为防治人类疾病、提高健康水平提供技术、方法和手段。医学知识的直接来源是对人体生命活动现象的观察研究和开展动物实验。由于许多生命活动的现象无法直接在人体上进行研究，所以选用动物进行实验观察和研究现已成为获取医学知识的主要来源。从这个意义上说，医学本身就是一门实验科学。

机能学实验就是一门用实验的方法来观察和研究正常、患病以及药物作用下机体的机能代谢变化及其规律的课程。在本书的机能篇中，融合了生理学、药理学、病理生理学、神经生物学、中医药学等多门医学机能学科的内容，使理论与实践相结合，并强调实验的综合性、探索性和科学研究的现代性。

机能学实验教学分三个方面进行：

第一，介绍基本知识与基本实验技能：通过介绍机能实验学的基本知识与基本实验技能，使同学们掌握基本的实验操作技术，学习常用仪器的正确使用办法，了解严格而规范的基本实验现象和准确记录实验结果。

第二，综合性实验：综合性实验以各种疾病的动物模型为实验对象，观测模拟的病理生理和救治过程中实验动物机能的变化，使同学们联系临床学会融会贯通生理学、药理学和病理生理学的理论知识，全面培养学生的独立思考能力、综合分析能力和科学思维能力。

第三，开展设计性、探索性实验：探索性实验的目的是激发学生求知欲，让学生了解科学研究过程，学会新思维。学生在教师指导下自主学习，通过选题、实验设计、实验实施、统计处理实验数据和撰写实验论文的实践过程，培养学生的实验设计能力、对实验结果进行统计分析的能力、独立解决问题的能力、书面表达能力和团结协作的能力，提高学生的主动性和创造性，培养学生的创新意识与开拓精神，最终为提高学生的综合素质打下坚实基础。

学习机能学实验课程的目的是：



1. 学习机能学实验的基本知识、领会机能学科的基本理论

通过本课程循序渐进的学习和实践,逐步掌握进行机能实验所需的基本知识,同时通过用机能学科的基本理论来分析和解释实验中观察到的现象,加深对机能学科基本理论的认识,并在整体、器官系统、组织细胞和分子等不同水平,对健康、疾病状态下及药物作用下,机能代谢的变化及其基本规律有更深入的理解。

2. 学习机能学实验的基本技能

通过本课程的学习,熟悉开展动物整体实验的基本方法,对活体组织、器官和细胞进行在体和离体实验的技术,对机体机能代谢变化的动态观察、测量和比较的方法,熟悉主要实验仪器的原理和使用技能,学会机能实验报告的书写方法。

3. 培养开展科学研究的基本素质

实验设计的基本方法、人类疾病动物模型复制的基本方法、实验数据的统计处理、科研论文撰写的基本要求等知识,为今后从事科研创新奠定基础。同时通过本课程的教学,培养学生对科学工作严肃的态度、严谨的作风、严密的思维方法和团结协作的精神,要善于独立思考、惯于分析综合、勇于探索创新。

(刘慧慧)

第二章

机能学实验技术



记录

第一节 离体组织器官实验技术

学习目的和要求

1. 目的 了解离体组织器官实验的基本知识，初步掌握离体组织器官的制备及其检测方法。
2. 要求 掌握离体器官、组织实验常用的制备方法。通过对几种离体器官、组织的制备和观察，熟悉离体组织器官实验的检测方法和观察指标。

实验一 离体小肠平滑肌灌流实验

【原理与应用】

观察哺乳类动物消化道平滑肌的一般生理特性；分析某些药物对离体肠平滑肌的作用及其机制。

哺乳类动物消化道平滑肌具有收缩性、缓慢而不规则的自动节律性、伸展性和对化学、温度及机械牵张刺激较为敏感等生理特性。消化道平滑肌经常保持着微弱的持续收缩状态，即有一定的紧张性。本实验应用不同的化学刺激、神经递质和药品作用于离体平滑肌，以了解哺乳类动物消化道平滑肌的一般生理特性及药物的影响。

【实验用品】

1. 材料 家兔。
2. 试剂 台氏液、1:10000 肾上腺素、1:100000 乙酰胆碱、1:10000 阿托品、1% 酚妥拉明、1% 氯化钙溶液、1mol/L NaOH 溶液、1mol/L HCl 溶液。

附：台氏液的配制

1000ml 台氏液含：NaCl, 8.0g；KCl, 0.2g；MgSO₄ · 7H₂O, 0.26g；NaH₂PO₄ · 2H₂O 0.065g；NaHCO₃, 1.0g；CaCl₂, 0.2g；葡萄糖, 1.0g；蒸馏水加至 1000ml。



3. 仪器、用具 BL-420 生物信号采集处理系统、CW-3 型恒温平滑肌槽、张力换能器、铁支架、双凹夹、温度计、烧杯。

【实验操作】

1. 恒温平滑肌槽的准备：水浴槽预热温度约 40°C ，采用外加温度计调整药液管内（台氏液）的温度，打开供氧开关供氧。

2. 离体肠段制备：家兔麻醉（20% 乌拉坦，5 ml/kg），取出十二指肠或空回肠上半段，剪成 2~3cm 长的小肠段，用线结扎两端。

附：观察肠管纵行肌活动，沿长轴剖开，取一条肌片两端结扎固定；观察环形肌底运动，纵行切开后作 S 形交互剪开，两端结扎固定。

3. 离体肠段标本固定与记录：将制备好的肠段一端固定于钩上，另一端垂直固定在张力换能器上，调节高度使松紧度合适。

4. 描记肠平滑肌自动节律性收缩曲线：曲线基线的高低表示小肠平滑肌紧张性的高低；幅度大小表示小肠平滑肌收缩活动的强弱。

5. 乙酰胆碱的作用：在药液管中加入 1:100000 乙酰胆碱 1~2 滴，观察收缩活动的改变，待乙酰胆碱作用明显后，先打开药液管的出口放弃含药的台氏液，再打开二通开关使预液管预温的台氏液通向药液管，重复冲洗 2~3 次，待肠管恢复正常收缩后，再进行下一步实验。

6. 肾上腺素的作用：在药液管中加入 1:10000。肾上腺素 1~2 滴，观察收缩活动的改变，待肾上腺素作用明显后，先打开药液管的出口放弃含药的台氏液，再打开二通开关使预液管预温的台氏液通向药液管，重复冲洗 2~3 次，待肠管恢复正常收缩后，再进行下一步实验。

7. 阿托品的作用：在药液管中加入 1:10000 阿托品 2~4 滴，2min 后再加入 1:100000 乙酰胆碱 1~2 滴，观察肠平滑肌活动有何变化，并与步骤 5 之乙酰胆碱作用结果进行比较。待阿托品作用明显后，先打开药液管的出口放弃含药的台氏液，再打开二通开关使预液管预温的台氏液通向药液管，重复冲洗 2~3 次，待肠管恢复正常收缩后，再进行下一步实验。

8. 酚妥拉明的作用：在药液管中加入 1% 酚妥拉明 3~4 滴，2min 后再加入 1:10000 肾上腺素 1~2 滴，观察肠平滑肌的活动有何变化，并与步骤 6 之肾上腺素作用结果进行比较。待酚妥拉明作用明显后，先打开药液管的出口放弃含药的台氏液，再打开二通开关使预液管预温的台氏液通向药液管，重复冲洗 2~3 次，待肠管恢复正常收缩后，再进行下一步实验。

9. 氯化钙的作用：在药液管中加入 1% CaCl_2 1~2 滴，观察肠平滑肌收缩活动的改变，待氯化钙作用明显后，先打开药液管的出口放弃含药的台氏液，再打开二通开关使预液管预温的台氏液通向药液管，重复冲洗 2~3 次，待肠管恢复正常收缩后，再进行下一步实验。