第一图书网, tushu007.com

<<实验技术中的“惑”与“获”>>

图书基本信息

书名：<<实验技术中的“惑”与“获”>>

13位ISBN编号：9787117166843

10位ISBN编号：7117166843

出版时间：2013-1

出版时间：人民卫生出版社

版权说明：本站所提供下载的PDF图书仅提供预览和简介，请支持正版图书。

更多资源请访问：http://www.tushu007.com

第一图书网, tushu007.com

<<实验技术中的“惑”与“获”>>

内容概要

《实验技术中的"惑"与"获"》共收录了近200例实验技术的案例，分为核酸技术、蛋A质技术、细胞技术、微生物与免疫技术、动物技术、临床检验技术和海外实验室技术这7篇，每篇里又分了章和节，分门别类，条理清晰。
《实验技术中的"惑"与"获"》的案例，都是筛选来自基础医学、生命科学或检验医学一线科研人员在实验室操作过程中遇到的一些典型例子，内容有简单的仪器使用心得体会，也有对细胞培养技术的总结，动物损伤模型建立失败后的探索，分子生物学实验细节的剖析，还有临床检验结果失真的分析等。

第一图书网, tushu007.com

<<实验技术中的“惑”与“获”>>

书籍目录

第一篇 核酸技术 第一章 DNA提取和鉴定技术 第一节 如何获得高产量DNA 第二节 乙醇沉淀核酸中盐的作用 第三节 核酸抽提中乙醇洗涤的作用 第四节 DNA的聚丙烯酰胺凝胶电泳银染 第五节 荧光素酶双报告基因中调节目的质粒与内参质粒比例是关键 第二章 RNA提取技术 第一节 如何提高RNA提取质量 第二节 如何提高总RNA纯度和产量 第三节 RNA纯度对荧光定量RT—PCR准确性的影响 第四节 组织反复冻融易致RNA降解 第五节 谁动了我的细胞RNA 第三章 质粒提取和构建技术 第一节 质粒DNA提取实验的细节深究 第二节 质粒DNA电泳有几条带 第三节 质粒构建 第四节 灵活酶切以玩转克隆 第五节 分子克隆方法——细节决定成功 第四章 PCR技术 第一节 以V2R为例设计引物并使用BLAST验证 第二节 引物设计惑与获 第子节 引物二聚体终于消失了 第四节 PCR扩增实验污染的惨痛教训 第五节 如何减少PCR产物中的引物二聚体 第六节 昙花一现的PCR结果 第七节 如何获得完美的荧光定量PCR结果 第八节 实时荧光定量PCR中荧光定量标准曲线很重要 第九节 MicroRNA的荧光定量PCR检测之我见 第十节 残缺的芯片扫描图 第十一节 “假阳鬼子”和“拦路虎” 第十二节 PCR扩增攻略 第二篇 蛋白质技术 第一章 蛋白质电泳技术 第一节 讨厌的波浪线 第二节 冬天里的一把火 第三节 当头棒喝！
蛋白质双向凝胶电泳聚不上焦 第四节 蛋白质双向凝胶电泳横条纹的教训 第五节 蛋白质双向凝胶电泳聚焦后胶条的白色霜状析出 第六节 蛋白质双向凝胶电泳弥散的蛋白质点 第七节 Clean up失效后的思考 第二章 Western blotting方法 第一节 Wcstcrn—blotting变成了Western—lost 第二节 高背景被“擦”掉了 第三节 “祸起萧墙”——豁然开朗 第四节 蛋白条带不给力 第五节 蛋白抗体不给力 第六节 蛋白抑制剂不给力 第七节 令人费神的磷酸化蛋白的WB检测 第八节 如何使样品间内参趋于一致 第九节 为了那比金子更贵的抗体 第十节 Western Blotting 多个环节需注意 第三章 蛋白质免疫鉴定技术 第一节 都是封闭血清惹的祸 第二节 免疫荧光实验技术之我见 第三节 免疫共沉淀实验的独门秘籍——精选“手术刀”去除免疫球蛋白条带 第四章 蛋白质纯化和蛋白质晶体技术 第一节 试剂说明书不是“金标准” 第二节 沉淀、沉淀，不要再见 第三节 拨开乌云见天日——从蛋白质微晶到晶体 第三篇 细胞技术 第一章 细胞培养的基本技术 第一节特别的爱给特别的你 第二节谁动了我的细胞 第三节如何成功进行大鼠肺动脉平滑肌细胞的体外培养 第二章细胞污染 第一节什么污染 第二节恼人的小黑点 第三节谁是细胞污染的元凶 第四节黑胶虫，请别来找我 第三章细胞活力检测 第一节“鱼”和“熊掌”不可兼得 第二节走自己的路，莫轻易盲从 第三节MTT结晶溶解很重要 第四节不断探索，寻找最佳实验条件 第四章细胞凋亡检测 第一节DAPI染核中细胞固定的重要性 第二节避免非特异染色 第三节胰酶消化制备单细胞悬液 第五章流式细胞术 第一节是谁悄悄蒙上了你的眼睛 第二节动态观察，多思多得 第三节都是染料惹的祸 第六章相关技术 第一节“厚此”≠“薄彼” 第二节向左转？
向右转？
第三节染色体制备心得 第四节为什么单个核细胞分离得率不高 第五节如何采用CPT管成功地分离外周血单个核细胞 第四篇微生物与免疫技术 第一章微生物技术 第一节众里寻他千百度——厌氧菌的培养经历 第二节脂多糖银染的技巧 第三节关于重复实验的几点看法 第四节搅拌转速对发酵生产的影响 第五节都是更换生产品种惹的祸 第六节发酵罐染菌的原因分析 第七节快速准确知晓靛基质试验结果的巧方法 第八节变形杆菌属与其他菌属的分离方法 第二章免疫技术 第一节成功中的失败 第二节阳性对照也很重要 第三节酶标板今天“唱白脸” 第四节不要被OD值的大小所迷惑——关于ELISA法检测梅毒假阳性与假阴性的报道 第五节“即刻法”的前两点 第六节加样仪惹的祸 第七节“鱼”与“熊掌”兼得的梅毒检测方法 第八节人兔和谐，共用抗体 第九节我的兔子谁做主 第十节当空白对照不再空白 第十一节自噬体的检测方法 第五篇 动物技术 第一章纲举目张——建模心得 第一节实验动物模型选择 第二节发育损伤模型屡遭失败后的原因探讨 第三节兔VX2肿瘤模型构建方法改进 第四节等长收缩时的力量与持续时间问题 第五节可控水囊的妙用 第六节急性胰腺炎造模方式的选择 第七节颌关节定量加力模型的建立始末 第八节大鼠脑立体放射治疗模型制作 第九节大鼠放射性肺炎模型的制作 第十节小鼠肿瘤放疗模型的制作 第十一节放射性食管损伤模型制作 第十二节痉挛模型中“撞”来的成功 第十三节移植排斥需谨慎 第二章未雨绸缪——实验准备 第一节动物实验前的准备 第二节纪念降脂实验中牺牲的大鼠兄弟们 第三节溶血与凝聚实验中血的代价 第四节吸入染毒装置的改良 第五节与猫配合的降压实验 第六节如何进行裸鼠移植瘤的无菌照射 第三章画龙点睛——实验技巧 第一节柳暗花明

第一图书网, tushu007.com

<<实验技术中的“惑”与“获”>>

又一村——中药体内实验感悟 第二节可怕的过敏实验 第三节祛痰实验方法的改进 …… 第六篇 临床检验技术 第七篇 海外实验室技术

第一图书网, tushu007.com

章节摘录

版权页： 插图： 【箴言】采用药物治疗污染的细胞只是一种无奈的补救方法，在实验过程中应当以预防为主，例如选择优质的试剂品牌和信誉良好的经销商，这也是防范细胞受污染的一个重要方面。
当然在实验操作和实验耗材等多个环节中注意避免微生物污染也非常重要。
（杨健，邮箱为yj1984ren@126.com） 第二节恼人的小黑点 【背景】2008年，我从外省某细胞中心购买一批细胞，细胞刚寄到的时候，培养瓶口处的封口胶完好（没有培养液溢出的痕迹），倒置显微镜下观察细胞形态良好，密度适中，培养液未见浑浊或是异物。
细胞置于实验室培养箱中过夜，次日传代，传代培养约一周后在镜下观察到细胞密度降低，还发现了一些奇怪的小黑点。
【困惑】难道是污染了？
这是我脑袋里冒出来的第一个想法。
但是培养液没有出现明显的浑浊，到底是不是污染，如果是污染又是什么原因造成的什么类型的污染呢？
如何除去这些小黑点呢？
这让我感到非常的纠结。
【探索】经过观察发现，在低倍镜下这些散在的小黑点仿佛一层模糊的黑点状背景，在高倍镜下仔细观察发现黑点似乎在抖动。
这些小黑点到底是常见的微生物污染（细菌、真菌和支原体等），还是细胞碎片或者是某试剂中的杂质呢？
1.微生物污染？
处理：连续观察细胞状态，清洗细胞，并用多种抗生素“诊断性治疗”和染色的方法分析小黑点的性质。
方法：用PBS清洗细胞，尝试在培养基中加用终浓度为100U／ml的青霉素和100μg／ml的链霉素；另一瓶细胞采用25μg／ml的制霉菌素处理；Hoechst 33258染色后用荧光显微镜观察。
取适量培养基置于无细胞的培养瓶中过夜，在镜下观察有无小黑点。
结果：PBS清洗细胞，可以改善镜下视野的背景，但继续培养小黑点又会再次出现。
镜下见细胞间隙较大，部分细胞中可观察到少量颗粒状物质，但是在小黑点增加的过程中细胞状态没有进一步变差。
无细胞的培养瓶中没有出现较多散在的小黑点样物质。
单纯加用青霉素、链霉素或制霉菌素分别处理细胞后，镜下的黑色小点未见明显减少。
Hoechst 33258染色后未在荧光显微镜下观察到细胞膜表面的绿色小点。
结论：细胞状态欠佳。
另外，由于常规抗生素处理效果不明显，荧光染色也未发现特异部位的染色，而且培养液外观未见浑浊、细胞状态也没有进一步变差，这提示小黑点不是我们在实验室中常见的细菌、真菌或是支原体污染。
2.非生物类的杂质？
经过尝试性的抗生素处理，虽然不能完全肯定小黑点不是微生物污染，但是可以初步得出常规抗生素无效的结论。
虽然在镜下看到这些小黑点的确让人很心烦，但是对于我的细胞状态并没有产生进一步持续恶化的负面影响。
接下来我考虑从细胞和试剂角度进行分析。

第一图书网, tushu007.com

编辑推荐

《实验技术中的"惑"与"获"》所有案例都是工作中遇到的真实案例，在朴实和灵活的写作过程中为读者提供一种发现问题、解决问题的思路，给读者以启发，能够快速准确地发现并解决类似问题；另一方面也提示年轻医务工作者在工作中做一个“ 有心人 ”，勤于动脑和动手，遇到问题要学会思考，学会积累，积少成多，逐步锻炼科研能力。
从另一个层面分析，困惑少了，假阴性、假阳性避免了，我们可以把更多的精力投入到保证实验结果的质量上去，出错概率随之降低，可极大提高工作效率。

第一图书网, tushu007.com

版权说明

本站所提供下载的PDF图书仅提供预览和简介，请支持正版图书。

更多资源请访问:http://www.tushu007.com