

<<现代药理实验方法（上下册）>>

图书基本信息

书名：<<现代药理实验方法（上下册）>>

13位ISBN编号：9787811363753

10位ISBN编号：7811363755

出版时间：2012-7

出版时间：中国协和医科大学出版社

作者：张均田

页数：全两册

字数：4800000

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>

## <<现代药理实验方法（上下册）>>

### 内容概要

《现代药理实验方法》是一部集中了现代药理学研究方法和技术的专著，该书收集了现代药理学实验方法，包括动物实验方法、分子生物学实验方法、细胞生物学实验方法、生物化学方法、仪器分析方法、电生理技术方法、放射性核素标记技术方法等，比较系统地介绍了现代药理研究中应用的各种技术方法，为药理学工作者提供了一部内容丰富，实用性强的工具书，对于提高我国药理学研究水平发挥了积极的作用。

<<现代药理实验方法（上下册）>>

书籍目录

上册

- 第一编 分子生物学实验方法与技术
- 第二编 细胞生物学实验方法与技术
- 第三编 信息传递的研究方法和技术
- 第四编 钙研究方法与技术
- 第五编 放射配体受体结合实验方法与技术
- 第六编 神经递质、肽、神经营养因子的研究方法与技术
- 第七编 免疫学试验方法与技术
- 第八篇 磷脂测定方法及其在药理学研究中的应用
- 第九篇 一氧化氮、一氧化碳及其合成酶的研究方法与技术
- 第十篇 激素的研究方法与技术
- 第十一篇 抗氧化及自由基实验方法与技术
- 第十二篇 线粒体研究方法
- 第十三篇 电生理实验方法
- 第十四篇 核磁共振实验技术在药理学研究中的应用

下册

- 第十五篇 微阵列基因分析在新药研发中的应用
- 第十六篇 荧光可视化实验方法的应用
- 第十七篇 药物代谢实验方法和技术
- 第十八篇 行为药理实验方法与技术
- 第十九篇 抗帕金森病实验方法与技术
- 第二十篇 抗衰老及阿尔茨海默病的药物研究方法
- 第二十一篇 脑卒中的实验方法与技术
- 第二十二篇 抗血栓形成及相关研究方法与技术
- 第二十三篇 动脉粥样硬化与心肌缺血预适应研究方法
- 第二十四篇 治疗糖尿病药物药理实验方法与技术
- 第二十五篇 肿瘤药理实验方法与技术
- 第二十六篇 抗炎、抗过敏及肝损伤实验方法与技术
- 第二十七篇 组织器官纤维化的研究方法与技术
- 第二十八篇 计划生育药物研究方法与技术
- 第二十九篇 抗菌、抗病毒药物的实验方法与技术
- 第三十篇 药物毒理学实验方法与技术
- 第三十一篇 时间药理学实验方法
- 第三十二篇 药物的化学结构与活性的关系
- 第三十三篇 药理学实验设计与数据处理技术
- 第三十四篇 基于受体结构的药物分子设计
- 第三十五篇 兴奋剂检测方法与技术
- 第三十六篇 新药研究开发过程及有关原则、技术与方法

## 章节摘录

一、组织与细胞的固定 进行原位杂交的组织 and 细胞必须经过固定处理。

理想的原位杂交的固定液应具备：能很好地保持组织细胞的形态；对核酸无抽提、修饰与降解作用；不改变核酸在组织细胞内的定位；不影响核酸与探针的杂交；对杂交信号无遮蔽作用。常用的固定液有10%甲醛、40%多聚甲醛、乙醇：冰醋酸（3：1）、戊二醛、Carnoy固定液、Bouin固定液等，各种固定液有不同的优缺点。

4%多聚甲醛是应用最广泛的固定液之一，它能较好地保持组织或细胞内的RNA，固定时间为10~15min时RNA含量比较恒定。

过度延长固定时间会引起细胞质内生物大分子的过度交联，影响探针的穿透力，降低杂交效率。

固定时间亦是影响原位杂交的重要因素，需根据具体实验摸索出适于自己要求的固定液及固定时间。

原位杂交在载片上进行，载片的处理对杂交的成功至关重要，必须保持清洁，且不能有任何核酸酶的污染。

为防止杂交及检测过程中组织或细胞从载片上脱落，可用新鲜配制的1mg/ml多聚赖氨酸液涂于载片上，作为细胞和组织的黏附剂，待其干燥后再进行细胞涂片或组织切片。

明胶液也是一种常用的黏附剂。

二、组织和细胞杂交前的预处理 原位杂交同样遵循核酸杂交的一般原则，但与滤膜杂交不同的是组织细胞中的核酸都与细胞内的蛋白质结合，以核蛋白体的形式存在于细胞中，固定过程中固定液的交联作用使细胞中的各种生物大分子形成网络，影响探针的穿透，阻碍杂交体的形成，杂交前必须用去垢剂或/和蛋白酶对组织细胞进行部分消化，以去除核酸表面的蛋白质，使探针易与靶核酸杂交。

Triton-X-100和SDS是常用的去垢剂。

常用的蛋白酶是蛋白酶K，其浓度及消化时间在不同的组织细胞中相差极大，可通过预实验确定适当的浓度及消化时间，要注意防止过度消化导致细胞结构的破坏和核酸从载片上的脱落，从而导致假阴性结果。

三、探针的选择及标记 原位杂交的探针可以是单、双链DNA、RNA或寡核苷酸，长度以50~300bp为宜，此长度的探针在细胞中的穿透力好，杂交效率高，某些特殊情况，如染色体基因定位或为使探针交联成网络而增强杂交信号时，可采用长达1.5kb的探针。

放射性核素和非放射性标记探针均可用于原位杂交。

四、杂交 原位杂交的特异性，依赖于探针的结构、杂交温度、杂交液中甲酰胺、盐离子浓度及pH值等。

严格控制杂交条件，探针只能同高度同源的靶核酸杂交。

为防止杂交液中液体蒸发造成杂交液浓缩或干燥而使探针非特异性吸附增多、本底升高，需使用密闭的湿盒，其底部的液体与杂交液盐浓度相同。

为了提高探针的浓度，杂交液的体积应尽可能缩小，每张切片为10~20 $\mu$ m<sup>2</sup>，其中含有2ng放射性核素标记的ds-DNA或RNA探针，或含有10~20ng非放射性核素如生物素标记探针。

常用的杂交液多为50%甲酰胺、2 $\times$ SSC、10%硫酸葡聚糖。

杂交温度为37~60 $^{\circ}$ C，cDNA与RNA探针在原位杂交中的最佳温度为50 $^{\circ}$ C，DNA探针的杂交可在2~4h内完成，RNA探针则需杂交12h以上。

进行细胞内DNA的原位杂交时应将组织切片加热至95 $^{\circ}$ C 5~15min，以使靶DNA变性。

五、杂交结果的检测 放射性核素标记的探针杂交经放射自显影即可对被检测核酸进行定位、定量研究。

非放射性核素标记的探针主要是化学显色显示杂交结果。

六、核酸原位杂交的操作方法 (一)切片的制备 1.冷冻切片的制备 (1)手术切块或新鲜活检标本，用PBS冲洗两次，用冷冻切片机切片，将切片标本附于涂有1mg/ml多聚赖氨酸的载片上，室温空气干燥3min。

&hellip;&hellip;



<<现代药理实验方法（上下册）>>

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>