

前 言

《常用医学实验仪器原理与应用》是专为四年制医学实验技术专业本科生打造的专业主干课程教材。本书聚焦医学科学研究中的核心仪器设备，既系统覆盖大型医学实验专用仪器，也全面纳入生物学与医学科学研究常用的中小型仪器。每一类仪器背后，都对应着一门独立的实验技术，因此，掌握仪器的工作原理与应用方法，是开展相关实验的核心基础。本课程的核心目标，在于帮助医学实验技术专业学生毕业后能快速适应现代医学科研与临床诊断领域的发展需求。

在内容编排上，本书对大型仪器的介绍以医学科研及临床分子诊断常用设备为核心，具体包括小动物活体成像系统、电子显微镜、流式细胞仪、激光扫描共聚焦显微镜、质谱仪、膜片钳及毛细管电泳仪；此外，针对科研分子诊断环节，系统梳理了常用的中小型仪器类别与应用场景。对于每一类仪器，我们不仅详细阐释其工作原理、结构组成、标准操作流程及日常维护要点，更着重剖析了它们在科研实践与临床诊断中的典型应用案例，力求引导学生对各类大型仪器设备的认知从“知其然”深入到“知其所以然”，构建起理论与实践结合的完整知识体系。

作为一门实践性极强的课程配套教材，我们在编写过程中始终秉持“图文并茂、简洁易懂”的原则：通过直观的示意图与清晰的文字解读，降低复杂仪器知识的学习门槛；在教学安排的配套设计上，特意加大实验课比重，旨在通过实操训练强化学生的仪器操作能力与问题解决能力。本书兼具扎实的理论深度与突出的实践性、专业性，为确保内容质量，我们邀请了全国多所高校相关领域的资深专家共同参与编写。需说明的是，包括主编在内的每位编者均深耕特定仪器领域，对其他章节的专业内容难以全面把控，因此在第一稿完成后，我们特别组织同行专家评议，随后召集全体编者集中研讨、逐章修改完善，最终定稿成书。尽管如此，本书仍然可能存在不足之处，敬请学界同行不吝批评指正，以期再版时臻于完善。

本书的编写得益于高等学校医学实验技术专业联盟的组织和大力支持，得到了重庆医科大学基础医学院的大力支持与资助，对此我们表示衷心感谢！感谢高等学校医学实验技术专业联盟的各院校的大力支持！感谢参与评阅的同行专家们！

编 者

2024 年 10 月于重庆

目 录

前言

第一章 绪论	1
第二章 离心机	6
第三章 细胞培养箱	20
第四章 超净工作台	34
第五章 生物安全柜	37
第六章 分光光度计	41
第七章 多功能酶标仪	49
第八章 聚合酶链反应仪	55
第九章 凝胶成像分析仪	66
第十章 荧光显微镜	71
第十一章 激光扫描共聚焦显微镜	76
第十二章 激光捕获显微切割系统	87
第十三章 电子显微镜	94
第十四章 流式细胞仪	120
第十五章 膜片钳	139
第十六章 毛细管电泳仪	154
第十七章 质谱仪	163
第十八章 小动物活体成像系统	172
参考文献	181

第一章 绪 论

2012 年教育部专业目录调整,医学实验技术专业被纳入医学技术类二级本科专业,学制四年,毕业生授予理学学士学位。2013 年起,国内部分院校率先开设该专业,但缺乏统一的培养方案、课程体系及配套教材。为规范该专业教学、夯实学生实操能力,高等学校医学实验技术专业联盟年会将“常用医学实验仪器原理与应用”确立为专业核心课程。本课程主要介绍在医学科学研究过程中常用的主要设备和仪器的基本原理、结构构造、使用方法、主要用途及日常维护等。希望在掌握相关仪器基本工作原理的基础上,学生能制备出适合观察和检测的样品,深入理解样品前处理要求,进一步发现医学科学研究需要与现有设备和仪器之间的差距,对仪器设备生产厂家提出参数提高甚至结构优化等合理化建议。通过本课程的学习,旨在培养出能够熟练使用常用医学实验仪器,能制备出满足医学科学研究的样品,甚至能指导科研工作者做好样品前处理工作的医学实验技术人才。

一、“常用医学实验仪器原理与应用”课程的确立和教材的编写

2012 年教育部优化本科专业设置,将医学技术类设立为独立专业体系,涵盖医学检验技术(原检验医学专业)、医学口腔技术、医学影像技术、医学实验技术、眼视光技术、康复医学技术等多个二级专业。其中,除医学检验技术专业比较成熟外,包括医学实验技术专业在内的其他专业都面临课程体系空白、缺乏统编教材和可借鉴讲义等困难。自 2013 年起相关医学院校陆续开设了医学实验技术专业,但培养目标各有侧重,部分院校侧重动物实验,部分院校侧重中医中药实验室技术,还有部分院校侧重医学美容,因此培养方案、课程设计的差异显著。大家希望共同商讨解决医学实验技术专业学生培养、发展、深造途径等一系列共同面临的问题,个别院校相互走访学习却无法达成共识,因此高等学校医学实验技术专业联盟应广大院校的要求而成立。2018 年,联盟第一届年会在重庆医科大学召开,会上大家根据教育部的培养方案建议,考察了重庆医科大学医学实验技术专业的培养方案和课程设计,初步认同重庆医科大学开设的“大型仪器原理与应用”课程并在全国推广。

2019 年,联盟第二届年会在浙江中医药大学召开,会议的标志性成果之一就是重庆医科大学开设的“大型仪器原理与应用”课程体系为框架,由重庆医科大学牵头,联盟各院校共同参与编写医学实验技术专业首部专业教材。会议根据各位代表的意见和建议,对“大型仪器原理与应用”课程所讲授的仪器设备进行了调整,增加了小动物活体成像系统及部分实验室常用的中小型仪器,删除了非仪器设备部分的图像分析软件。2023 年 10 月,哈尔滨医科大学举办的联盟年会对教材体系和顺序进行了更合理的调整,使其更完整、更科学、更适合医学实验技术专业的实验原理与应用。为了突出医学实验技术专业特色,与医学检验技术的仪器学及其他医学技术专业的仪器设备课程进行区分,课程更名为“常用医学实验仪器原理与应用”。

二、讲授的主要仪器

《常用医学实验仪器原理与应用》按实验室仪器的使用相关性编排章节内容。首先介绍了实验室最常接触到的小型仪器。第二章至第五章分别介绍了用于细胞收集和分离液体中悬浮颗粒物、分离不同密度液体混合物的离心机;用于体外培养组织、细胞、细菌等的细胞培养箱;为实验提供无尘埃、无生物颗粒物、无菌、高洁净工作环境的超净工作台;防止生物危害物质泄漏和传播,保护操作者、实验样品和环境安全的生物安全柜。在医学实验室中,这些仪器经常被使用,是医学实验技术专业学生必须掌握的基本仪器。

第六章至第十八章我们介绍了十三种(类)医学实验仪器设备:第六章介绍的分光光度计是利用物质分子选择性吸收紫外-可见光谱区辐射的一种重要分析仪器,主要依据物质特有的吸收光谱曲线上的某些特征波长处的吸光度,判定或测定该物质的含量,从而对物质进行定量和定性的分析。第七章介绍的多功能酶标仪在单台仪器上具有多个检测模块,可实现对吸光度、荧光强度、时间分辨荧光、荧光偏振和化学发光等两种或多种模式的检测。第八章介绍的聚合酶链反应(PCR)仪是进行PCR的仪器,可对PCR过程中三个阶段的温度及时间进行精确控制。经过30多年的发展,PCR仪已经发展到第三代定量PCR仪和第四代数字PCR仪。第九章介绍的凝胶成像分析仪是一种用于电泳分离后的DNA、RNA或蛋白质条带的可视化设备。随着技术的不断进步,凝胶成像仪将继续发展,并在分子生物学研究中发挥更大的作用。第十章介绍的荧光显微镜是光学显微镜的一种,它结合了光学显微镜的放大特性和荧光技术,通过物镜目镜系统观察标本自身荧光或者染色后激发诱导的荧光,以观察细胞内物质的吸收、运输、分布及定位等。其使用短波长光源,具有比传统光学显微镜更高的分辨率。第十一章介绍的激光扫描共聚焦显微镜是利用激光、电子摄像和计算机图像处理等现代高科技手段,与传统的光学显微镜结合产生的先进的细胞生物学分析仪器;在传统光学显微镜基础上,激光扫描共聚焦显微镜以激光作为光源,采用共轭聚焦原理和装置,利用计算机对所观察的对象进行数字图像处理、分析和输出,可以对样品进行断层扫描和成像,观察和分析细胞的三维空间结构。同时,结合免疫荧光标记和荧光离子标记探针技术,可以对固定的细胞、组织切片及活细胞的结构等进行动态观察和检测。第十二章介绍的激光捕获显微切割系统可在不破坏组织结构和保存要捕获的细胞及其周围组织形态完整的前提下,在显微镜直视下快速、准确地利用激光束直接从组织切片中获取目标细胞。通过低能红外激光脉冲激活热塑膜,在显微镜直视下有选择地将目标细胞黏附到膜上;或者通过紫外激光沿目标区域自动扫描切割所需样品边缘,使目标细胞与周围组织分离,从而获得目标细胞。它是目前最先进、自动化程度最高的组织纯化病理技术,成功解决了组织异质性问题,是研究组织或细胞特异性表达及其分子机制的强有力工具。第十三章介绍的电子显微镜是用电子束作为照明光源,用电子透镜聚焦成像的大型综合电子光学仪器。根据成像原理将电子显微镜分为透射电子显微镜和扫描电子显微镜,与能谱仪等结合成为分析电镜。近年来,随着科学技术的发展,电子显微镜的性能不断提高,目前已达到分辨单个原子的水平。计算机技术在电子显微镜中的应用,让电镜的使用更为方便快捷。本章还介绍了电子显微镜样品制备相关的设备如超薄切片机、组织处理仪、镀膜仪等。第十四章介绍的流式细胞仪是一种测量液相中悬浮细胞或微粒的现代分析技术。它可以快速测量、显示、存储悬浮在液体中的分散细胞的一系列重要的生物物理、生物化学方面的特征参量,并可以根据预选的参量范围把指定细胞亚群分选出来。现代流式细胞术结合单克隆抗体技术、定量细胞化学技术和定量荧光细胞化学技术,在生物学、临床医学、药理学、材料学等众多研究领域中得到突飞猛进的发展。第十五章介绍的膜片钳是一种采用钳制电压或电流的方法对生物膜上离子通道的电活动进行记录的微电极技术,可以分别记录生物膜中的电流与电压信号。膜片钳技术为电生理学的研究和发展做出了卓越的贡献。第十六章介绍的毛细管电泳仪以毛细管为载体,内充缓冲液,一端注入样品后,在两端加直流高压电从而实现对样品的分离,通过设在毛细管一端的检测器检测分离后的样品。如今毛细管电泳仪已经成为临床生化分离分析所必需的常规仪器。第十七章介绍的质谱仪利用高能电子流将样品物质电离成离子,在电磁场中实现离子的质荷比分离,进而对物质进行定性、定量分析。质谱仪具有准确度高、灵敏度高、提供的信息更丰富、可与多种色谱仪器进行联用等优点,目前已广泛应用于生命科学、有机化学、核工业、材料科学、环境化学等多个领域。第十八章介绍的小动物活体成像系统是随着分子成像技术、小动物成像设备、分子生物学、细胞生物学、转基因动物模型、基因编辑动物模型等的发展,集影像技术、计算机技术、图像分析等多种技术于一体而形成的,其核心原理是分子成像,可对小动物活体进行可见光成像、核素成像、核磁共振成像、CT成像、超声成像等,用以检测小动物活体内的分子、细胞、组织、器官等变化。

医学发展到今天已成为一个庞大的学科群,涉及的仪器设备很多。前述相关的医学技术二级专业都有专属仪器设备,临床涉及疾病诊断和治疗的设备更多,我们无法也不需要面面俱到,如有需要可查阅相关教材。需说明,本书没有讲授临床病理学所涉及的一些中小型仪器设备,这些设备在医学研究过程中常会用到。组织学实验技术仍是很重要的研究方法,但如石蜡包埋的组织处理仪与透射电子显微镜标本的组织处理仪、石蜡切片机与电子显微镜的超薄切片机等的原理与功能均有重叠,会在《组织学实验技术》中学到此类内容,就不再专章讲述,敬请谅解。

三、教学安排和学习方法建议

《常用医学实验仪器原理与应用》由绪论及 17 个独立章节组成,每章介绍一种(或一类)仪器,综合考虑医学实验室使用频率并结合仪器用途排序。各独立章统一分为六个板块:概述、仪器原理、结构、使用、维护和典型应用。书中讲述的大型设备均为医学实验技术专业必学的精密、贵重仪器;同时兼顾生物学、医学及分子生物学研究中不可或缺的中小型仪器,这些设备可能与其他医学技术专业交叉共用,各校可按自身培养方向与课程安排灵活取舍。课程建议总学时 88 学时,其中理论课占 40 学时、实验课占 48 学时,具体比例可由院校根据自身情况进行调整。各章节建议学时数具体安排如下,供大家参考(表 1-1)。

表 1-1 建议学时数

章节	内容	建议学时数	
		理论课	实验课
第一章	绪论	2	
第二章	离心机	1	1
第三章	细胞培养箱	1	1
第四章	超净工作台	1	1
第五章	生物安全柜	1	1
第六章	分光光度计	1	1
第七章	多功能酶标仪	1	1
第八章	聚合酶链反应仪	1	1
第九章	凝胶成像分析仪	1	1
第十章	荧光显微镜	2	4
第十一章	激光扫描共聚焦显微镜	3	6
第十二章	激光捕获显微切割系统	2	3
第十三章	电子显微镜	6	8
第十四章	流式细胞仪	3	4
第十五章	膜片钳	3	3
第十六章	毛细管电泳仪	2	2
第十七章	质谱仪	6	6
第十八章	小动物活体成像系统	3	4

常用医学实验仪器原理与应用理论课教学主要围绕仪器设备的工作原理、结构、使用方法、注意事项及常见故障的维护,重点讲述基本理论、理论分析。实验课教学力求让同学们对仪器设备有一个感性认识,从而加强对理论课所授知识点的理解和验证。需要指出的是,尽管各校医学实验技术专业招生人数不多,但涉及大型仪器设备的实验课还存在一定困难。因为这些设备和仪

器数量有限、运行费用高、承担的科学研究任务繁重,实验课无法做到人手一台,自由操作,主要以观看录像、现场观摩为主,注重样品安装及结果采集两个环节的训练。为了保证教学质量,必要时会把实验小班拆分成实验小组,需要教师付出成倍的时间,也需要同学配合。每一台大中型设备都能演绎出一门独立的技术,要想真正掌握这些设备和仪器的性能、使用方法及日常维护,需要在最后一年实习阶段实践学习。

学习本门课程须注意以下几点。第一,要注重理论课的学习,掌握仪器设备的基本原理,迭代改进对提高仪器性能的作用;掌握样品前处理过程中的关键步骤和注意事项,避免产生人为假象。第二,掌握仪器的使用方法和注意事项,避免在使用过程中损坏仪器,特别是避免改变参数。如前所述,每位同学操作机会有限,需要利用空闲时间进实验室寻找操作机会;也可以利用网络资源以弥补不足。第三,每一个仪器设备都有特定用途,但不同设备可用于解决相同问题,如透射电子显微镜、扫描电子显微镜和光学显微镜 TUNEL 染色都可用于观察细胞凋亡,流式细胞仪也可用于分析细胞凋亡,但它们的应用又有区别,应根据具体情况选择。第四,掌握仪器设备参数的意义,根据不同的应用,选择不同的参数。第五,要和其他课程结合起来,用已学的知识来解决现阶段遇到的问题,同时要结合本门课程中学到的知识理解以往课程学到的知识。总之,这门课程涉及专业较多,教师也只了解自己常用的仪器,无法对每一个仪器设备(特别是大型仪器设备)了如指掌,需要同学们付出更多的时间和精力。

四、医学仪器类实验室安全注意事项

(一) 防火安全

医学仪器类实验室需要严格遵守防火安全规定,确保实验室内的设备和材料安全,防止火灾事故的发生。

- (1) 禁止在实验室内存放易燃易爆物品,如汽油、乙醇等。
- (2) 实验室内的电器应符合防火规定,不使用劣质电器。
- (3) 实验室工作人员应熟悉防火器材的使用方法,定期检查消防设施是否完好。
- (4) 严禁在实验室吸烟,防止火灾事故的发生。

(二) 电气安全

医学仪器实验室内的电器较多,需要严格遵守电气安全规定,防止触电事故的发生。

- (1) 实验室内的电气应符合电气安全规定,不使用劣质电器。
- (2) 实验室内的电线和电缆应合理布线,不乱接乱拉电线。
- (3) 实验室工作人员应熟悉触电急救方法,掌握必要的电气安全知识。
- (4) 严禁私自拆卸电器,如需维修,应由专业人员进行处理。

(三) 化学品安全

医学仪器实验室经常使用各种化学品,需要严格遵守化学品安全规定,防止化学事故的发生。

- (1) 实验室内的化学品应统一管理,分类存放,明确标识。
- (2) 严禁私自存放化学品,如需存放,应向实验室管理员申请。
- (3) 实验室工作人员应熟悉化学品急救方法,掌握必要的化学安全知识。
- (4) 严禁私自处理危险化学品,如需处理,应由专业人员进行处理。

(四) 设备安全

医学仪器实验室内的设备应严格遵守安全规定,防止设备事故的发生。

- (1) 实验室内的设备应合理布局,安全使用。
- (2) 实验室工作人员应熟悉设备操作规程,掌握必要的安全操作知识。

- (3) 严禁私自拆卸设备，如需维修，应由专业人员处理。
- (4) 设备维护保养应定期进行，确保设备正常运行。

(五) 辐射安全

医学仪器实验室经常使用各种射线装置，需要严格遵守辐射安全规定，防止辐射事故的发生。

- (1) 实验室内的射线装置应符合国家相关标准，操作人员需经过专业培训。
- (2) 实验室内的辐射防护设施应完好无损，定期检查辐射剂量是否符合标准。
- (3) 严禁私自操作射线装置，如需使用，应向专业人员申请。
- (4) 实验室工作人员应熟悉辐射急救方法，掌握必要的辐射安全知识。

(六) 生物安全

医学仪器实验室经常涉及生物样品处理，需要严格遵守生物安全规定，防止生物安全事故的发生。

- (1) 实验室内的生物样品应统一管理，分类存放，明确标识。
- (2) 严禁私自存放生物样品，如需存放，应向实验室管理员申请。
- (3) 实验室工作人员应熟悉生物安全操作规程，掌握必要的安全操作知识。
- (4) 严禁私自处理危险生物样品，如需处理，应由专业人员处理。
- (5) 处理生物样品后，应及时消毒灭菌，防止交叉污染。
- (6) 实验室内的生物安全设施应完好无损，定期检查生物安全防护措施是否符合标准。
- (7) 严禁未经批准擅自将实验室内的生物样品带出实验室。

(余华荣 范京川 罗子国 董为人)

第二章 离心机

离心机（centrifuge）是利用离心力来分离液体中悬浮颗粒或不同密度液体混合物中各组分的仪器。混合物中的组分在极高速度下会受到超强离心力的作用，使得密度大的颗粒逐渐偏离旋转中心，而密度小的颗粒则朝向旋转中心方向移动，从而达到沉降分离的效果。这些颗粒会沉积在管底，形成沉淀物。这样分离得到的样品可直接分析或者进一步处理。离心速度决定了施加到样品上的离心力，其大小选择与所需分离样品的性质有关。随着转速提高，一些平时难以区分的样品也可以得到更精细的分离。

一、离心机概述

离心现象是指物体在离心力场中进行沉降运动的现象。应用离心沉降进行物质分离和分析的技术称为离心技术（centrifugal technique）。离心机是实现离心技术的仪器。离心机可分离悬浮液中的固体颗粒与液体，也可拆分乳浊液中密度不同、互不相溶的两相液体，同时能够脱除湿固体介质中的液体成分。其中，超速管式离心机可实现不同密度气体混合物的分离；沉降式离心机则依托固体颗粒因密度、粒度差异产生的沉降速度差，完成固体颗粒的分级。在实际操作中，针对不同的分离样品，可根据离心原理选择不同的离心方法。常用的离心方法有平衡离心法、平衡密度梯度离心法、经典式沉降平衡离心法等。如果在科研中需要研究生物大分子的结构或沉降特性或者需要检测一些生物大分子的分子量，还会用到分析型超速离心法。各种离心方法均有其优缺点，在进行离心分离时，需根据研究对象选择离心方法。选择的依据主要是颗粒的大小和密度及各种离心方法的特点，如果两种颗粒的大小和密度相似，则须通过适当方法改变某种组分的性质再进行离心分离。

离心机根据最高转速可分为低速、高速、超速等类型；按工艺用途可分为过滤式离心机、沉降式离心机；按安装的方式可分为立式、卧式、倾斜式、上悬式和三足式等。

离心机未来的发展趋势将是加强分离性能，在离心分离过程中增加新的推动力；通过加大转鼓直径和采用双面转鼓提高处理能力，开发大型离心机；增加专用和组合转鼓离心机；加强分离理论研究和离心分离过程最佳化控制技术研究，并降低能耗和维修费等。

早在古代，我国先民便已初步运用离心分离原理；将绳索的一端系住陶罐，手握另一端旋转甩动陶罐，借离心力挤压出蜂蜜，这是离心技术最原始的应用形式。工业离心机诞生于欧洲，先后出现用于纺织品脱水的三足式离心机和制糖厂用于分离结晶砂糖的上悬式离心机。这些早期的离心机都采用间歇操作和人工排渣。最初，离心技术被用于分离混合液中不同密度的微粒，在科研和临床医学诊断中主要采用手摇离心机进行离心分离，缺点是转速低、离心力小，只能进行分离血清和尿沉渣等简单操作。随着科技的不断发展，电动离心机问世，离心机的转速和离心力不断提高，离心机的类型也越来越新颖。19 世纪末到 20 世纪初只有低速离心机，到 20 世纪 20 年代开始出现高速离心机，20 世纪 70 年代开始出现高速变频离心机，直至 20 世纪 80 年代变频电机和微型计算机相结合，离心技术更加成熟和完善，尤其是近年来，电子计算机自动控制程序的应用使得离心机的研制有了飞速发展，出现了几十万转的超高速离心机。不同厂家生产各式各样的离心机以满足不同的实验需求。目前，国内一种操作方便、结构简单、分离时颗粒不易被破坏的三足式离心机已广泛应用于各个领域。在国外，俄罗斯萨马拉国立医科大学的专家已研制出能加速下肢骨折患者康复的新型医用离心机，并已经应用于临床治疗。

目前，国产离心机和进口离心机在性能上差别不是很大，我国已掌握离心机的核心技术，基本能满足各行业的研究和医学实验室的需要。同档次离心机价格差异有限，主要体现在性能和配

置方面；配有冷冻功能的离心机价格显著高于普通离心机，控制程序越精密，离心机价格越高。根据需求，离心机还可配备加热功能。离心机要按照仪器说明书使用及维护，并建立与之匹配的制度。

二、离心机的原理

颗粒在离心管中的沉降速度与离心机转速有关，转速越快，颗粒沉降越快。通常为了使离心力和重力相比较，提出了相对离心力（relative centrifugal force, RCF）的概念。

RCF 是指在离心场中，作用于颗粒的离心力，以离心力相当于地球重力的倍数来表示，单位是重力加速度“ g ”。例如， $25\,000\times g$ ，则表示相对离心力为 25 000。

RCF 的值（ g 值）取决于转子的转速（revolutions per minute, RPM，单位为 r/min）和旋转半径（ r ，以 cm 计算），RCF 和 RPM 之间的换算公式如下：

$$\text{RCF}=1.11\times 10^{-5}\times r\times (\text{RPM})^2$$

只要确定旋转半径 r ，RCF 和 RPM 之间可以相互换算。

由于转头的形状及结构的差异，每台离心机的离心管，从管口至管底的各点与旋转轴之间的距离是不一样的，所以在计算时规定旋转半径均用平均半径“ r_{av} ”代替：

$$r_{\text{av}}=(r_{\text{min}}+r_{\text{max}})/2$$

一般情况下，低速离心时常以 RPM 来表示，高速离心时则以 RCF 表示。

计算颗粒的 RCF 时，应注意颗粒在离心管中所处位置不同，即与旋转轴中心的距离“ r ”不同，所受离心力也不同。因此，在超速离心条件下，通常用地心引力的倍数“ $\times g$ ”代替 RPM，因为它可以真实地反映颗粒在离心管内不同位置的离心力及其动态变化。

科技文献中离心力的数据通常是指其平均值（ RCF_{av} ），即离心管中点的离心力。离心机常有多种不同形状的转头，其各自所反映的离心力的大小和离心沉降距离也不一样，在实际工作中应根据分离要求正确选择使用。各种常见组分的离心参数见表 2-1。

表 2-1 各种常见组分的离心参数

名称	沉降系数（ S ）	RCF（ $\times g$ ）	转速（r/min）
细胞	$>10^7$	<200	$<1\,500$
细胞核	$4\times 10^6\sim 10^7$	600~800	3 000
线粒体	$2\times 10^4\sim 7\times 10^4$	7 000	7 000
微粒体	$10^2\sim 1.5\times 10^4$	1×10^5	30 000
DNA	10~120	2×10^5	40 000
RNA	4~50	4×10^5	60 000
蛋白质	2~25	$>4\times 10^5$	$>60\,000$

三、离心机的结构

离心机的发展表现在构造和离心方法的不断改进。构造的改进首先体现在转速的提高，由最初仅有每分钟几十转发展到今天几十万转的超高速离心机经历了六代，驱动系统的寿命从 10 亿转提高到 200 亿转；工作时间由几小时发展到数十小时或数天；离心转子（转头）的种类不断改进和增加；控制的自动化程度不断提高；机体外型朝着美观、实用、小型化的方向发展；最大的进步是离心方法的不断丰富和发展，使离心机的应用范围不断扩大。

实验室离心机的结构主要包括驱动系统、离心转头、控温系统（低温机型制冷）、整机控制和显示、安全保护系统 5 个主要部分。普通实验室离心机在构造上与高速离心机大体相同。超高速

离心机还配置真空系统。离心机一般由箱体、门盖和内胆等组成。箱体和门盖采用钢板材质，内胆采用不锈钢材质。

（一）驱动系统

离心机的驱动方式，先后经历了手摇式、电动式、机械变速、油压 / 气压动力机械变速，直至如今的变频电机变速阶段。在驱动结构上，不同机型设计各异：有的离心机采用双电机驱动；有的离心机采用单电机驱动转鼓旋转，并通过电磁涡流差速器实现转速差；还有的离心机，其转鼓与螺旋分别由独立液压系统驱动，或转鼓直接由变频电机驱动。不同驱动方式各有其优缺点。从转速发展来看：19 世纪末至 20 世纪初，离心机仍处于低速电动阶段；20 世纪 20 年代，超速离心机问世；1933 年，空气透平式离心机推出，依靠压缩空气推动涡轮进而带动离心机旋转；1955 年，风动离心机研制成功，转速可达 100 000r/min；20 世纪 70 年代，高速变频电机开始广泛应用；80 年代，变频电机与微型计算机结合，使离心机的转速控制与整机性能大幅提升；进入 90 年代后，离心机技术日趋成熟，能够较好满足科研、生产及医学等领域的使用需求。

离心机驱动系统主要由电机、驱动轴及减震机构组成。电机主要分为直流串激电机与变频电机，目前主流采用交流变频电机；驱动轴多采用密封润滑式结构；减震机构则可有效降低离心机工作时的振动幅度与噪声。

（二）离心转头

1. **角式转头** 角式转头是指离心管腔与转轴成一定倾角的转头。
2. **荡平式转头** 由吊着的 4 个或 6 个自由活动的吊桶（离心套管）构成。
3. **垂直转头** 其离心管垂直放置。
4. **区带转头** 区带转头无离心管，主要由一个转子桶和可旋开的顶盖组成。
5. **连续流动转头** 可用于大量培养液或提取液的浓缩与分离，转头与区带转头类似。

离心机转头损坏的原因除金属疲劳外，一般是操作或使用不当所造成的，如超速、腐蚀、不平衡等。

（三）控温系统

通常实验室离心机有低温控制和常温控制两种，但超过 18 000 r/min 的机型多为低温控制。低温控制多采用一级压缩机无氟制冷，具有预冷程序、待机状态可维持恒冷，以适应实验室机动性、连续性工作需要。

（四）整机控制和显示

目前，离心机多采用微处理机控制，数字、液晶显示（LCD）屏幕、薄膜晶体管（TFT）彩色触摸屏等方式显示的控制面板，键钮人机智能化调设。此类离心机在控制上具有以下特性。

- （1）自动转头识别。可设置转速和 RCF，并实时显示实际值。
- （2）多挡设置的升速 / 降速控制。
- （3）瞬时离心控制。自检和故障提示。
- （4）程序记忆和储存功能，可储存实验室（者）常规使用的多个离心程序（多达 20 个），便于调出以前用过的某一优化程序进行离心操作。

（五）安全保护系统

离心机转速高，有一定的安全风险，一般配有安全保护系统，由主电流保护、超温保护、超速保护、不平衡保护和门盖安全保护等组成。

四、离心机的使用

（一）离心方法的选择

在进行离心分离之前,要根据研究对象和目的选择离心方法。离心方法的选择是依据颗粒的大小、密度及各种离心方法的特点。如果样品中颗粒的大小或沉降系数差异显著,通常采用差速离心即可实现较好的分离效果;通过设置适宜的离心转速和离心时间,可将沉降速率不同的样品分离。

如果颗粒的大小差别不大而密度有差别,则应采用平衡密度梯度离心法;离心时密度不同的物质颗粒或向下沉降,或向上漂浮,一直移动到与它们各自密度恰好对应的位置(等密度点),形成区带以分离。

如果两种颗粒的大小和密度都相似,则须通过适当方法改变某种组分的性质,然后进行离心分离。

（二）离心条件的确定

离心分离的效果除了与离心机种类、离心方法、离心介质及密度梯度等因素有关以外,实际操作时,离心机的转速、离心时间、离心介质的温度和离心介质的 pH 等条件也至关重要。

1. 离心机的转速 离心力的大小取决于转子的转速及旋转半径,故在说明离心条件时,通常用 RCF 来表示。

2. 离心时间 离心时间依据离心方法的不同而有差别。对于差速离心法,离心时间是指被分离的某种物质颗粒完全沉降到离心管底的时间;对于平衡密度梯度离心法,离心时间是指颗粒完全到达等密度点的平衡时间;而密度梯度离心法所需的时间则是指形成界限分明的区带的时间。离心的具体时间,尤其是密度梯度离心法和平衡密度梯度离心法所需的区带形成时间或平衡时间,其影响因素较多,一般要通过试验确定。

3. 离心介质的温度 为了防止被分离物质变性和失活,还必须控制好温度及介质溶液的 pH 等离心条件。生物样品进行离心分离时,温度一般控制在 4℃ 左右;对于某些热稳定性较好的酶等,离心也可在室温下进行;但在超速或高速离心时,由于转子高速旋转产热会引起转子室内温度升高,故必须采用冷冻系统,使温度保持在一定范围内。

4. 离心介质的 pH 离心介质的 pH 应该处于酶稳定的 pH 范围内,必要时可使用缓冲液。另外,过酸或者过碱的介质还能腐蚀转子和离心机其他部件,应该尽量避免。

（三）低速离心机的使用

低速离心机是对混合溶液进行快速分离沉淀的专用设备,通常转速 $< 10\,000\text{ r/min}$,如 DT5-3 离心机(图 2-1),可广泛用于医疗、科研等单位进行化验、生化试验及悬浮液分离等。

1. 工作条件

环境温度: 5~40℃。

相对湿度: $\leq 80\%$ (温度 25℃)。

电源要求: 单相交流 220 V $\pm$ 22 V; 频率 50 Hz $\pm$ 1 Hz; 额定电流 10 A; 波形为标准正弦波。

2. 操作与使用方法

(1) 离心机及离心筒、隔架及其他附件的安装: 将离心机置于平稳台面上,检查附件是否齐全。按下离心机右侧的开盖按钮,打开离心机上盖,拆下旋转盘固定泡沫。将塑封电源线接入机器后的电源插座。

将 4 个 12 孔隔架装于旋转盘上,使之能自由摆动。将 5 mL (或 7 mL) 试管 (105 mm 高真空采血管) 装于 4 个 12 孔隔架中,可供 5 mL (或 7 mL) $\times 12 \times 4$ 支试管进行液体分离。若转子号选 2,其最高转速 $\leq 4200\text{ r/min}$ (离心血液时建议转速设为 3500 r/min)。



图 2-1 低速离心机

如果使用的是 96 孔培养板，需安装 96 孔培养板专用转子，拧紧锁母。最高转速不得超过 2000 r/min。

注意：当同时分离不同容量的试样时，须将同容量的转子隔架对称安装，其最高转速按各转子对应的最高转速中的最低值设置。

(2) 试样平衡：配平试管溶液，并对称放置于相应的离心筒或隔架内（隔架内的试管须对称放置，目测值 $\leq 10\text{ g}$ ）。单份试样可用水与之配平，并对称放置。（注意：严禁离心单份试样，在偏重状态下使用，会造成危险及导致离心机损坏）。

(3) 运转前的检查：电源电流、电压是否符合要求。确保旋转盘、离心筒、隔架安装到位，转动灵活。检查旋转盘固定螺母是否旋紧。确保试样等重配平、对称放置。严禁在不平衡状态下运转。（试液密度 1.2 g/cm^3 ）

(4) 离心机操作

1) 接通电源，按离心机右侧开盖按钮，对称装上已配平的试样，盖好上盖。参数显示窗见图 2-2。

转速		000×100 r/min
时间		000×min
离心力	RCF	000×100×g
关盖显示		(显示关时机器可以运转，否则处于断电状态)
转子选择	1 2 3 4	

图 2-2 参数显示窗

2) 设置转子号：连续按设置键→转子号闪烁时，按▲▼键确定与运转转子一致的转子号。

3) 设置转速（离心力）：按设置键→转速（离心力）数字闪烁→按▲▼键，根据需要设置相应转速（离心力）。

4) 设置时间：按设置键→时间数字闪烁，按▲▼键确定预制运转时间。

5) 启动和停机：设置完成，按启动键，离心机开始运转。当转速显示“000”时机器发出鸣叫声后，按“开盖按钮”，打开上盖，取出试样。（通常离心机的程序具有记忆功能，如下次继续以同样的转速、时间处理同样的样品，按“启动”键即可。）

6) 升降速率设置：同时按▲▼键，显示窗中第一行闪烁显示 A01-10，按▲▼键调整数字，01 为上升速率最快，10 为上升速率最慢（下降设置相似）。一般建议设置为 03~05，按确定键即可储存到程序中。

7) 机器具有超速和失速保护及报警装置。当转子的实际转速大于所规定的该转子号允许运行的最高转速 +300 r/min 或失速时，机器将自动停机并发出报警声。此时须先断电再通电方可重新设置运行。机器安全系统检测到转子转动时，系统会自动锁住开盖按钮，不能打开上盖。

3. 低速离心机使用的注意事项 应由专业人员操作，为保证安全，离心机使用的电源必须可靠接地。确保样品经过等重配平，在离心机内对称放置。不平衡状态下禁止运转。旋转盘凹槽应可靠地安装在回转轴轴销上，并将旋转盘上的螺母旋紧。旋转盘应无损伤或腐蚀，如被腐蚀