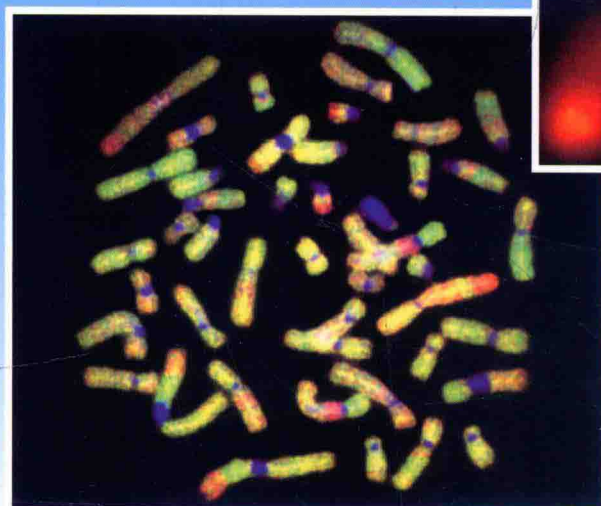


高等医学院校教材

医学细胞生物学与遗传学 实验指导

◎ 主 编 陈贤均



人民卫生出版社

高等医学院校教材

医学细胞生物学与遗传学 实验指导

主 编

陈贤均

编 者

(以姓氏笔画为序)

马 萍 吴 喆 吴春林

陈贤均 单士刚 焦 铭

图书在版编目 (CIP) 数据

医学细胞生物学与遗传学实验指导 / 陈贤均主编. —北京:
人民卫生出版社, 2013

ISBN 978-7-117-17606-4

I. ①医… II. ①陈… III. ①人体细胞学-细胞生物学-
实验-医学院校-教学参考资料②医学遗传学-实验-医学院
校-教学参考资料 IV. ① R329.2-33 ② R394-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 150357 号

人卫社官网	www.pmph.com	出版物查询, 在线购书
人卫医学网	www.ipmph.com	医学考试辅导, 医学数 据库服务, 医学教育资 源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

医学细胞生物学与遗传学实验指导

主 编: 陈贤均

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷: 北京铭成印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 8

字 数: 195 千字

版 次: 2013 年 8 月第 1 版 2015 年 8 月第 1 版第 2 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-17606-4/R · 17607

定 价: 23.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

前言

医学细胞生物学和医学遗传学是基础医学的前沿学科和重要课程,其研究成果已广泛应用于基础医学和临床医学,掌握这两门学科的实验研究方法对于医学工作者十分必要。医学细胞生物学与医学遗传学实验(或实习)有其自身特殊的教学目的和任务。第一,培养学生的操作技能,了解或熟悉医学细胞生物学与医学遗传学研究方法。第二,有助于学生理解、巩固理论知识。第三,培养学生的独立思考能力和创新研究能力,全面提高科学技术素质。为了保证实验教学效果,实现实验教学目标,湖北科技学院基础医学院此两门课程的教师共同编写了本实验教材。

本教材主要为医学本科生编写,根据具体的教学对象和教学目标确定了选择实验内容的四个原则:第一,提高学生能力原则,通过实验(实习),能培养学生生物材料的制备技能、常用仪器设备的使用技能,能提高学生观察思考能力、分析表达能力、联想综合能力和创新研究能力;第二,实用性原则,即在实验教学中学到的方法与技术能够应用于科学研究和临床实践,解决实际问题;第三,可行性原则,本书主要用于本科生课堂实验教学,因此必须有课堂教学的可行性;第四,良好实验效果原则,即按照实验步骤和方法完成实验操作后,有具体、明确、良好的实验结果,具有稳定性和可重复性。

本书内容分为三个部分:第一部分,医学细胞生物学实验,内容包括光学显微镜技术、细胞标本片的制备技术、细胞组分分离与鉴定技术、染色体制备与分析技术,以及细胞形态、亚细胞结构、细胞膜的渗透性、细胞融合及细胞增殖等细胞生命活动的观察。第二部分,医学遗传学实验,内容涉及染色体技术与染色体病的诊断分析、分子遗传学技术及其应用,以及群体基因频率、基因型频率及遗传平衡分析等,分别代表细胞遗传学、分子遗传学和群体遗传学等不同层次的研究方法与技术。医学遗传学实验(实习)中编入了染色体病的病例诊断、分析和模拟遗传咨询,这既是案例式教学模式,也是将医学遗传学理论与技能应用于医学实践的范例。第三部分,开放性实验研究技术,主要是遗传病基因诊断技术和毒理遗传学研究技术。第一、二两部分内容具有良好的课堂教学可行性,适用于课堂实验教学。第三部分作为部分优秀本科生和硕士研究生进行科学研究而学习掌握的实验技术,是为进一步培养提高学生实验研究能力而设置的。

编写者本着对教学负责、对学生负责的态度,认真编写每一个实验内容。实验目的简洁明了,实验原理阐述充分,器材与试剂详细具体,步骤与方法条理清晰。编者为书中语言的流畅性、结构的层次性和条理性、逻辑的严密性、风格的一致性以及每

个细节的科学性和合理性等都进行了精心推敲。全书共有插图近 60 幅，图文并茂。图片全由编写者绘制和拍摄，照片来自编者在科学研究、临床检验和实验教学中获取的图像资料。实验项目后编写了作业与思考题及试剂的配制方法与存放条件，旨在激发学生积极思考，更好地理解实验原理和实验设计意图，明确实验试剂的相关要求，保证试剂质量。

本书在编写过程中参考了有关实验指导、教材和研究文献，在此谨向这些图书文献的主编和作者们表示诚挚的谢意。本书虽经编者精心雕琢，但限于编者的学术水平，错误和缺点在所难免，诚恳希望使用本书的老师和学生指出错误或缺点，提出宝贵的修改意见，以便再版时更正和完善。

陈贤均

2013 年 6 月

目 录

第一部分 医学细胞生物学实验	1
实验一 普通光学显微镜的结构与使用方法	1
实验二 细胞基本形态结构的观察	8
实验三 细胞临时标本片的制备与观察	13
实验四 细胞计数、测量及死活鉴别	17
实验五 细胞膜的渗透性	23
实验六 聚乙二醇介导的细胞融合	26
实验七 细胞器的观察及线粒体的活体染色	29
实验八 细胞核与线粒体的分级分离与特异染色	34
实验九 小鼠骨髓细胞染色体制备与观察	38
实验十 细胞有丝分裂的观察	42
第二部分 医学遗传学实验	46
实验一 性染色质的制备与观察	46
实验二 人体淋巴细胞培养及染色体制备	51
实验三 人类非显带染色体观察与核型分析	55
实验四 人类染色体 G 显带与 G 带染色体识别	59
实验五 人类染色体 C 显带标本制备与观察	65
实验六 人类染色体病病例诊断与分析	68
实验七 姐妹染色单体差别染色及 SCE 分析	72
实验八 群体 PTC 尝味与味盲基因频率及遗传平衡分析	76
第三部分 开放性实验研究技术	80
实验一 药物对细胞增殖与凋亡的影响	80
实验二 人类基因组 DNA 提取及 SRY 基因的检测	85
实验三 男性不育患者白细胞 DNA 的无精子因子检测	89

实验四 遗传毒物对染色体诱变和细胞增殖影响的检测·····	93
实验五 单细胞凝胶电泳技术·····	97
实验六 DNA-蛋白质交联检测技术·····	102
参考文献·····	105
人类染色体 G 带模式图·····	106
插图 人类染色体图片·····	107
病例核型分析剪贴纸·····	119

第一部分

医学细胞生物学实验

· 实 验 一 ·

普通光学显微镜的结构与使用方法

【实验目的】

1. 熟悉普通光学显微镜的结构及各部件的功能。
2. 掌握普通光学显微镜的使用方法。
3. 了解几种特殊显微镜的用途。

【实验原理】

显微镜核心部分的主要部件是物镜和目镜，物镜与目镜的结构虽然比较复杂，但它们的作用均相当于一个凸透镜。用显微镜观察标本时，照明光线通过标本，射入物镜、目镜，最后射入观察者的眼睛，在此过程中成像并放大。成像的过程为，被检物体在物镜后方形成倒置放大的实像（图 1-1-1，第一像）。此像位于目镜的下焦点（下焦平面）以内，并通过目镜形成正置的、进一步放大的虚像，通过调焦可使虚像落在眼睛的明视距离处，通过眼球晶状体（相当于一个凸透镜），最后在视网膜上成为倒置的放大图像（图 1-1-1，第二像）。所以，用显微镜可以看清微小物体的结构。

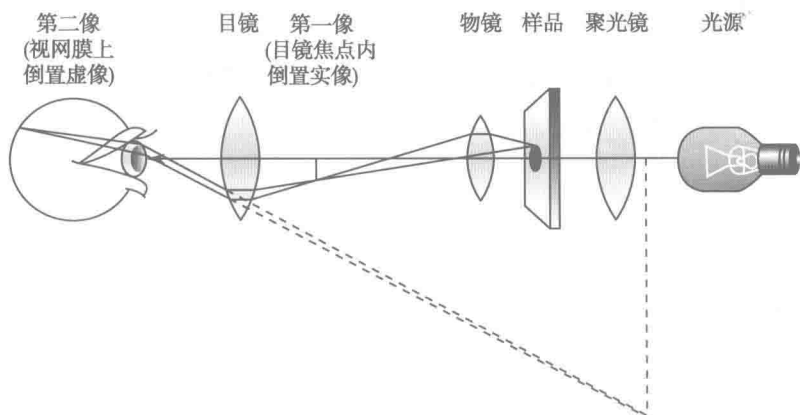


图 1-1-1 普通光学显微镜的成像原理

【实验材料、器械与试剂】

- 1. 实验材料 双色羊毛交叉装片，文字装片，鸡血涂片。
- 2. 器械用品 普通光学显微镜，香柏油，擦镜纸（剪成约 3cm × 4cm 大小）。
- 3. 实验试剂 二甲苯 + 乙醇（1：1）或者乙醚 + 乙醇（7：3）混合液。

【实验步骤与方法】

一、熟悉普通光学显微镜的基本结构及各部件的功能

普通光学显微镜（microscope）的外形和结构因类型不同略有差异，但基本结构和功能是相似的（图 1-1-2，图 1-1-3）。

（一）机械部分

- 1. 镜座 位于底部的金属座，用以支持和稳定整个镜体，并容纳充电电池、电源开关、亮度调节装置及照明灯等。
 - 2. 镜臂 镜柱上方弯曲部分，是取用显微镜时手持部位。
 - 3. 镜台升降调节手轮 在镜柱两侧有大小两个手轮，内侧较大者为粗调手轮，转动时载物台升降快、调节范围大，适于低倍镜调焦用。外侧较小者为微调手轮，转动时载物台升降缓慢，调节范围小，适于调节物像的清晰度。
- 此外，有的显微镜左侧粗调手轮内侧有一松紧调节轮，用以调节粗调节器的松紧度。向外转时调紧，向内转时调松。右侧粗调手轮内侧有一粗调限位环，环上有一凸柄，向上推紧时，镜台上升的最高点即被固定。建议初学者不要转动松紧调节轮和粗调限位环，否则可能会损坏显微镜。
- 4. 物镜转换器 又称旋转盘，连接于镜臂上端，为一可旋转的圆盘。作用是安装物镜并在使用过程中转换物镜。

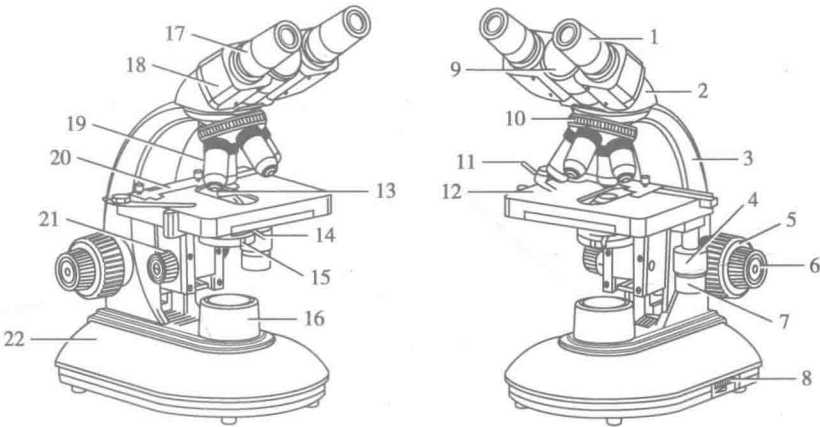


图 1-1-2 B203 型双目生物显微镜外形与结构

- 1. 目镜组 2. 双目罩壳 3. 镜臂 4. 镜台纵移手轮 5. 镜台升降粗动手轮 6. 镜台升降微动手轮 7. 片夹横移手轮 8. 旋转电位器（带开关） 9. 瞳距刻度盘 10. 物镜转换器 11. 片夹手柄 12. 镜台 13. 聚光镜 14. 孔径光阑拨柄 15. 照度适配器 16. 光源 17. 视度调节圈 18. 双目转轴组 19. 物镜组 20. 玻片夹 21. 聚光镜升降手轮 22. 底座组

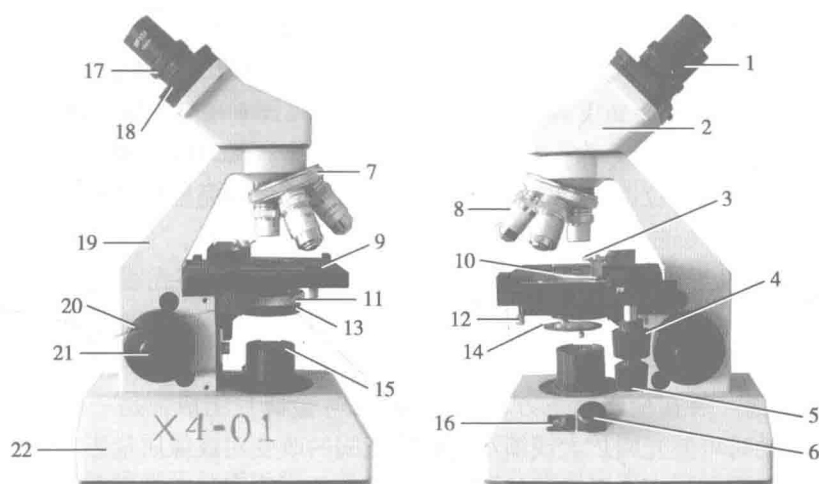


图 1-1-3 E221LED 型双目生物显微镜外形与结构

1. 目镜组 2. 双目罩壳 3. 片夹手柄 4. 镜台纵移手轮 5. 片夹横移手轮 6. 灯光亮度调节钮
7. 物镜转换器 8. 物镜组 9. 镜台 10. 玻片夹 11. 聚光镜升降调节环 12. 游标尺及片夹固定螺钉 13. 孔径光阑拨柄 14. 亮度适配器 15. 光源 16. 电源开关 17. 视度调节圈 18. 目镜间距推拉板 19. 镜臂 20. 镜台升降粗调手轮 21. 镜台升降微调手轮 22. 镜座组

5. 镜台 又称载物台，中央有一通光孔，位于物镜下方，用以放置显微标本片。

6. 玻片移动器 由玻片夹、齿轮、操纵手轮等部件构成，玻片夹位于镜台上，用于固定玻片标本，在镜台后边缘和左侧下方装有齿轮和齿轨，镜台左下方有两个同轴操纵手轮，用以操纵镜台前后移动和玻片夹左右移动。镜台的后边和左边有纵、横游标尺，并与玻片移动器联动。标尺中副标尺的 10 小格对应于主标尺的 9 小格。纵、横游标尺相当于一个直角坐标系中的纵坐标和横坐标，用以标定标本的某一点在观察时处在镜台上的位置。使用时，先看副标尺的 0 点位置对应于主标尺的刻度，再看主标尺与副标尺完全重合的刻度，即可读出数值。如图 1-1-4 所示横坐标读数为 40.5，纵坐标读数为 14.0。

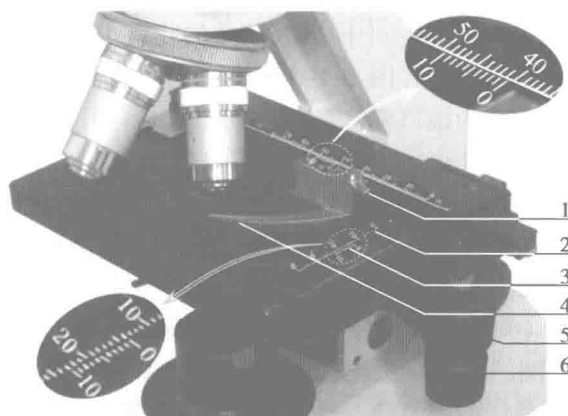


图 1-1-4 玻片移动器与游标尺

1. 片夹手柄 2. 纵向主标尺 3. 纵向副标尺 4. 玻片夹 5. 镜台纵移手轮 6. 片夹横移手轮

（二）照明部分

1. **照明光源** 显微镜底座上装有照明光源，目前制造的显微镜大都采用LED光源，照明光源连接开关及亮度调节装置。B203型（见图1-1-2）显微镜电源开关与亮度调节装置（旋转电位器）为一体，用一个旋钮操作；E221LED型（见图1-1-3）显微镜电源开关与旋转电位器分离，需分别操作。显微镜使用完毕后必须将电位器旋至最小，关闭开关。

2. **聚光镜** 位于镜台通光孔下方，由一组透镜组成。能将光线集中在标本上以增加亮度。不同的显微镜由于结构不同，聚光镜的升降操作结构和方式不同。聚光镜上升时，光线增强，图像衬度略降低；下降时，光线减弱，图像衬度略升高。

3. **孔径光阑** 装在聚光镜下方，由10或12片金属片组成，是一可变光阑，外侧有一小柄，拨动时可使光阑扩大或缩小，孔径光阑的改变对成像质量影响很大，调节光阑大小不仅可以改变亮度，更重要的是可改变成像的对比度、清晰度和景深。观察染色和未染色的标本或染色深度不同的标本对亮度和图像对比度的要求不同，故使用时需根据观察标本的具体染色情况，将孔径光阑调到合适大小，才能发挥显微镜的最佳性能，形成亮度、对比度、清晰度均理想的图像。

4. **照度适配器** B203型和E221LED型两款显微镜均在光阑下方装有照度适配器。它是一片白色毛玻璃，作用是将相对集中的照明灯光散射成较为均匀的照明光源，但同时降低灯光照度以及图像清晰度。低档显微镜使用这一装置，目的是用它来部分解决由于照明灯的安装位置偏离视野中心所致的视野亮度极度不均的问题。使用方法是，使用 $\times 10$ 以下的物镜时将照度适配器拨入光路，而在使用 $\times 40$ 以上的物镜时，需将其拨出光路，不能使用。

（三）光学部分

1. **目镜** 装于镜筒上端，最常用的是 $10\times$ 的目镜。目镜中可安装指针和目镜测微尺。目前使用的显微镜都是双目显微镜，两目镜之间的距离可调。

2. **物镜** 是显微镜最重要的部件，也是结构与性能最复杂的构件。显微镜的成像质量与性能的好坏主要取决于物镜。

（1）物镜的类型及物理参数：依放大倍数不同，分低倍镜（有 $\times 4$ 、 $\times 10$ ）、高倍镜（ $\times 40$ ）和油镜（ $\times 100$ ）三种。不同放大倍数的物镜都有不同颜色的色环作标记。每个物镜上刻有相应的物理参数（图1-1-5），如10倍物镜上标有10/0.25和160/0.17。10为物镜的放大倍数，0.25为镜口率，它决定物镜的分辨力；160表示该物镜要求显微镜的镜筒长度为160mm，0.17表示标准盖玻片厚度应为0.17mm。同一显微镜的不同物镜所要求的镜筒长度和标准盖玻片的厚度是一致的。

快速区分不同物镜是显微观察操作的最基本技能。如何快速辨认不同物镜？

（2）物镜的工作距离与同高聚焦：不同的物镜有不同的工作距离。所谓工作距离是指显微镜处于工作状态（对焦后，物像清晰）时，物镜最下端与载玻片上表面（想想什么是这个表面？）之间的距离。物镜的放大倍数与工作距离成反比。当低倍镜调节到工作距离时，可直接转高倍镜或油镜，然后用细调节器稍加调节，即可见到清晰物像，这就称为同高聚焦。特别注意：不能在不同型号的显微镜之间调换物镜，这样可能会破坏显微镜同高聚焦的性能。

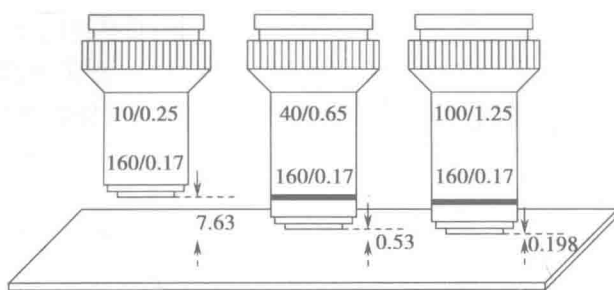


图 1-1-5 不同物镜的工作距离

向下箭头：物镜下端镜面；向上箭头：玻片上表面；上下箭头之间的距离为该物镜的工作距离；
 $\times 10$ 物镜为 7.63mm， $\times 40$ 物镜为 0.53mm， $\times 100$ 物镜为 0.198mm

(3) 物镜的分辨率及分辨极限：光学显微镜的分辨率取决于物镜的分辨率。物镜的分辨率受照明光线的波长、物镜与标本片之间介质的折射率以及物镜镜口张角的影响，可用如下公式表示：

$$R = 0.61\lambda / n \cdot \sin\alpha$$

式中 R 表示分辨率， R 值越小，物镜的分辨率越高； λ 表示照明光线的波长，波长越短分辨率越高； n 表示物镜与标本片之间介质的折射率，介质的折射率必须等于或大于相应物镜的镜口率； α 表示标本成像质点对物镜镜口张角的半角。白光的 $\lambda \approx 0.5\mu\text{m}$ ，香柏油的 $n \approx 1.5$ ， $\sin\alpha$ 的最大值为 1。因此，光学显微镜的最大分辨率大约为 $0.2\mu\text{m}$ ，这就是光学显微镜的分辨极限。

(4) 光学显微镜的成像质量及影响成像质量的因素：显微镜下的图像质量应该从亮度、对比度、分辨率三个方面评价，追求高质量的显微图像就应该追求合适的亮度、对比度和最大的分辨率。影响图像质量的因素也就是与这三个方面有关的因素。如何调节亮度、对比度及分辨率，使三者处于最佳状态，是显微镜使用中充分发挥显微镜的性能、提高图像质量的重要技巧。

显微镜的放大倍数 = 目镜放大倍数 $\times$ 物镜放大倍数。如目镜为 $\times 10$ ，物镜为 $\times 40$ ，其放大倍数为 $10 \times 40 = 400$ 倍。物镜的放大倍数越大分辨率越高，但目镜放大倍数的增加不会提高图像的分辨率，如果用高放大倍数的目镜来提高图像的放大倍数，事实上反而会使成像质量降低。

二、学习普通光学显微镜的使用方法

显微镜为精密仪器，核心部件是玻璃透镜，所以取拿显微镜时必须轻拿轻放。目镜为插入部件，显微镜平置或倒置时目镜容易从镜筒中滑出，所以绝不能在提拿显微镜时将其倒置，也不得随意取出目镜窥探或擦拭。

(一) 目镜间距调整与视度调节

瞳距因人而异，使用双目显微镜均需根据使用者的瞳距调整两目镜之间的距离，使其与自己的瞳距相同。若是转轴式双目镜，双手分别握住双目左右支架转动，直至双目看到的明亮视场完全重合。双目观察调焦时，先以右眼、右目镜观察，调节物像至清晰，再以左眼、左目镜观察，若不清，调节左目镜筒上的视度调节圈（而不是调镜台调节手轮），使左目镜成像与右目镜同样清晰。若是推拉板式双目镜，紧捏目镜

推拉板推或拉（绝不能直接推拉目镜），直至双目看到的明亮视场完全重合。为了充分发挥显微镜的成像性能，保证图像质量，目镜间距调好后，还需要调节目镜的视度圈，使其刻度圈上的数值与两目镜的间距值相同。这种状态下才能保证显微镜在标准机械筒长下使用。

（二）低倍镜的使用

取一张血涂片，将有盖玻片的一面向上置于镜台上，用弹簧夹夹住，然后用玻片移动器移动玻片，将待观察部分移动到通光孔中央。转动粗调节器，从侧面注视，使低倍镜距玻片标本约 5mm（切勿边在目镜中观察，边转动粗调节器，以防镜头顶压玻片造成损坏）。然后向目镜中观察，慢慢转动镜台升降粗调手轮，使镜台下降，当视野中出现物像时停止。上下转动微调手轮，使物像调至最清晰为止。如果物像不在视野中心，可扭动玻片移动器操作手轮，前后、左右移动将标本移到视野中央。

低倍镜视场较大，用低倍镜观察容易找到观察对象；低倍镜景深较长，容易找到像面并清晰调焦；加之低倍镜工作距离较大，不会压破玻片标本。因此，显微观察中必须按照从低倍镜→高倍镜，或者低倍镜→油镜的步骤原则进行。

（三）高倍镜的使用

低倍镜下找到要观察的清晰物像后，再把需要放大的部位移至视野正中（注意，若无特殊情况，在转换高倍镜之前不要再调焦）。转换高倍镜时，先从侧面注视，镜头不与玻片碰撞时，才能转换。转换物镜后，向目镜内观察，若物像不清晰，缓慢上下转动微调手轮（切勿使用粗调手轮），直至物像清晰。若转换高倍镜后找不到物像时，应仔细查找原因。

注意：若发生高倍镜头与玻片碰撞，不能用力强转，可稍稍降低载物台。在高倍镜或油镜下更换标本时，应先转开物镜，然后再取出或放置标本。

（四）油镜的使用

在低倍镜或高倍镜下，把欲观察的部分移至视野正中央，并将物像调节至最清晰后，再把物镜移出光路。眼睛注视侧面，在待观察部位滴一滴镜油，转换油镜，使油镜的镜面浸在油滴中，特别注意镜面与标本间不能有气泡，否则影响成像效果。在目镜中观察，慢慢上下转动微调手轮，直到物像清晰。

使用油镜过程中，注意不要使低倍镜和高倍镜沾上镜油。油镜使用完毕，转开镜头，用擦镜纸把镜头上的油擦干净，再用少许酒精-二甲苯混合液湿润的擦镜纸轻擦，一定要把油擦拭干净。

有盖玻片的标本，同样先用擦镜纸将油擦掉，然后再用擦镜纸沾少许酒精-二甲苯混合液将盖玻片擦干净。

注意：无盖玻片的标本不能擦，否则将损坏标本。

（五）文字装片与羊毛交叉装片的观察

1. 观察文字装片 取一张文字装片，用低倍镜观察。注意：镜内镜外所见文字的方向是否一致？如将玻片前后左右移动时，物像与玻片移动方向是否一致？这说明了什么？

2. 观察羊毛（或头发）交叉装片 取一张毛（发）交叉装片，先用低倍镜观察，找到两根毛（发）后，再将毛（发）交叉点移到视野中央，然后换高倍镜观察，再微微转动微调手轮，观察不同层次，判定哪条毛（发）在上方，哪条位于下方。注意：低倍

镜下与高倍镜下观察到的羊毛交叉点的图像有何差异,该差异说明了什么?

(六) 熟悉显微镜使用注意事项

显微镜是一种精密仪器,必须正确使用和维护。使用中注意以下事项。

1. 取镜时应一手握镜臂,一手托镜座,绝不可一手斜提,前后摆动,以免目镜从镜筒中滑出。
2. 接通电源之前必须关闭显微镜电源开关。
3. 粗、微调手轮都有一定的转动限度,不能一直单向转动,要特别防止镜头顶压玻片,以免压破玻片或损伤镜头。
4. 不能随意取下目镜,若确需取下时应注意镜筒防尘。
5. 不要反复连续开、关电源开关,这样会缩短灯泡使用寿命并损害电器元件。
6. 显微镜使用完毕,必须关闭电源,关闭前要将调光旋钮调到最弱位置。
7. 显微镜的光学部分只能用擦镜纸擦拭,不能用手指或普通纸或布擦拭。
8. 观察临时制片,不能让水或其他药品污染物镜或镜台,万一沾污,应立即擦净。

(七) 了解几种特殊显微镜的用途

1. **解剖显微镜** 解剖显微镜又称体视显微镜,所成的物像为正像。用于观察较小标本的全貌,解剖微小的动植物标本。

2. **荧光显微镜** 最主要的特点是以紫外光为光源。利用紫外光激发标本内的荧光物质或被荧光染料染色的标本发出不同颜色的荧光,再通过物镜和目镜的放大进行观察,其敏感性高,可用来研究标本内某些物质的化学特性和存在位置。

3. **相差显微镜** 其聚光器下装有一环状光阑,物镜中安装有相位板,两者互相配合,能使光波的相位差变成振幅差,这样可增大物体明暗的反差,用于观察未染色活细胞中的微细结构。

4. **倒置显微镜** 物镜位于标本的下方,而光源位于标本的上方,倒置显微镜使用长工作距离的物镜。主要用于细胞培养时观察培养瓶中细胞的生长情况。

【作业与思考题】

1. 从视野、焦点深度(景深)和工作距离三个方面说明为什么显微观察时必须按照从低倍镜到高倍镜再到油镜的顺序进行?
2. 如果在高倍镜下找不到物像,应从哪些方面找原因,如何解决?
3. 要经过哪些步骤才能在镜下找到清晰物像?
4. 通过观察羊毛装片和文字装片分别说明什么?
5. 如何判断物像是在标本片上、目镜上,还是在聚光镜上?
6. 如何提高显微镜的成像质量?

(陈贤均)

· 实 验 二 ·

细胞基本形态结构的观察

【实验目的】

1. 熟悉几种不同类型细胞光镜下的基本形态结构。
2. 初步掌握显微镜下绘图的方法。

【实验原理】

细胞或组织必须制备成显微标本片才能在显微镜下观察。根据制作方法不同,显微标本片可分为装片、涂片、切片、滴片、压片、印片等多种。大多数细胞是无色透明的,为清晰观察细胞结构,显微标本均需染色。染色是细胞化学反应的结果,细胞不同结构中有不同化学成分,不同化学成分对同种染色剂和不同性质的染色剂有不同的亲和力,因此可将细胞内部的不同结构染成不同颜色,便可清晰显示细胞内各种结构。不同种类的细胞具有不同的形态与结构,通过显微观察获得直观感受与认识,有助于更好地理解细胞的形态、结构决定生理功能,并与生理功能相适应的基本特性。

【实验材料、器械与试剂】

1. 实验材料 鸡血涂片,人血涂片,人口腔上皮细胞涂片,神经细胞涂片,小鼠精子涂片,骨骼肌分离装片,小肠切片。
2. 器械用品 普通光学显微镜,擦镜纸(剪成约 3cm × 4cm 大小)。
3. 实验试剂 95% 酒精。

【实验步骤与方法】

一、几种细胞基本形态结构的观察

观察时,注意比较不同类型细胞的大小(注意要在相同放大倍数下比较),并注意观察细胞的形态、结构、不同结构或区域的染色差异以及核质比等。

1. 血细胞 取鸡血涂片和人血涂片,置于低倍镜下观察,选择细胞密度合适、分布均匀的部位,移至视野中央,转换高倍镜观察,可见最多的是红细胞(图 1-2-1)。注意观察:①鸡血红细胞和人血红细胞在形态、结构、大小等方面有何不同;②参照图 1-2-1B,试着观察识别不同类型的人体血细胞;③比较人类不同血细胞的大小、结构、核质比及各部分结构的染色情况。

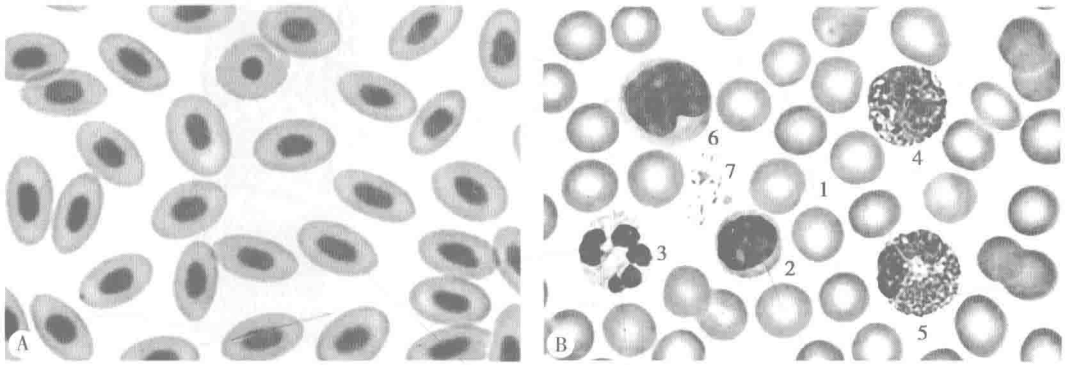


图 1-2-1 鸡血红细胞 (A) 与人体血细胞 (B) ($\times 40$)

1. 红细胞 2. 淋巴细胞 3. 嗜中性粒细胞 4. 嗜碱性粒细胞 5. 嗜酸性粒细胞 6. 单核细胞 7. 血小板

2. 人口腔黏膜上皮细胞 取口腔黏膜上皮细胞涂片, 置低倍镜下观察。选择完整而轮廓清楚的细胞移至视野中央, 转换高倍镜观察, 可见口腔上皮细胞为扁平不规则形。细胞核染色较细胞质染色深, 核中有时可见致密的核仁。细胞质中可见到大小不等的颗粒状结构, 即细胞器 (图 1-2-2)。

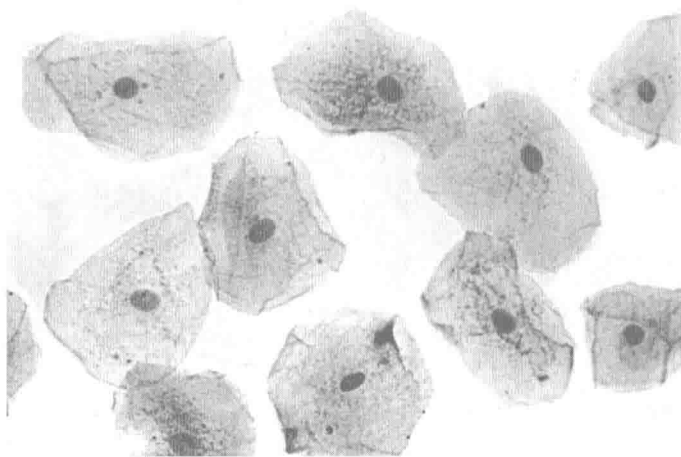


图 1-2-2 人口腔黏膜上皮细胞 ($\times 40$)

3. 神经细胞 取甲苯胺蓝染色的神经细胞涂片, 先后在低倍镜和高倍镜下观察。注意观察: ①哪些是神经细胞和小胶质细胞; ②神经细胞最突出的形态特征; ③细胞的大小; ④核质比的大小; ⑤可见到哪些细胞结构, 各部分结构的染色情况 (图 1-2-3)。

4. 小鼠精子 动物的精子都由头部、中段和尾部三部分构成。不同动物的精子, 结构相同, 形态有差异, 形态上的差异主要在头部。精子是特化的细胞, 细胞核特化为精子的头部, 含有一个基因组的全部基因, 是决定子代遗传性状的部分。细胞质成分特化为精子的中段和尾部, 中段由内而外依次是由微管构成的轴丝、线粒体和质膜, 线粒体以特化的形状紧密缠绕排列在轴丝外; 尾部的结构是与中段相延续的轴丝和质膜。中段和尾部构成了精子的“运动器官”, 其作用是使精子头部能到达与卵子相遇的位置, 帮助其受精。认真观察小白鼠精子的形态特征, 包括头部的形状、各部分颜色及所占比例等 (图 1-2-4)。

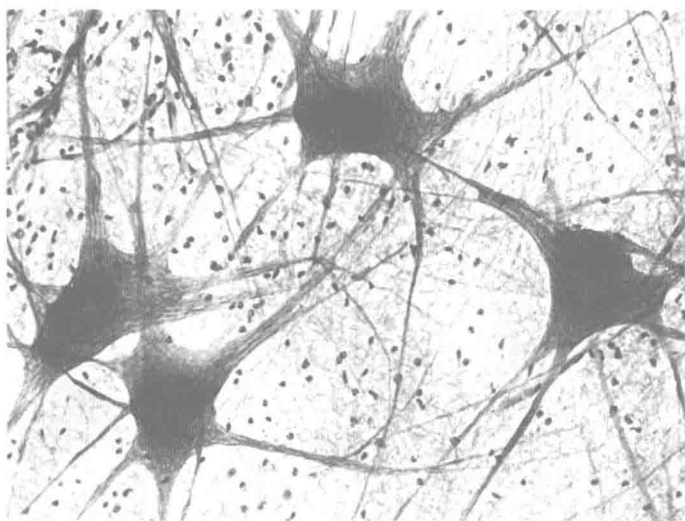


图 1-2-3 神经细胞 (×40)

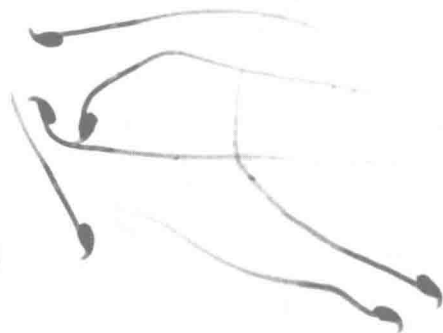


图 1-2-4 小鼠的精子 (×40)

5. **骨骼肌细胞** 取分离的骨骼肌装片在显微镜下观察。分离的骨骼肌细胞大多在长度上不完整,很多都是长短不等的断片。另一方面,还有一些未分离开的、包含几个不完整细胞的粗纤维,注意与单细胞纤维区分。图 1-2-5A 是骨骼肌分离后将其平行排列在一起的图像,其长度只是完整骨骼肌纤维的很小一部分。注意观察骨骼肌细胞的形态特征、细胞核的数目及位置、是否有横纹等。

取骨骼肌切片在低倍镜下观察(图 1-2-5B),看看与分离的肌纤维有何异同?注意观察肌组织的特征,思考肌原纤维、肌纤维和肌束之间的关系。

6. **小肠黏膜上皮细胞** 取小肠切片先在低倍镜下观察,搞清样本的解剖学位置,确认并观察肠壁肠腔面。高倍镜下,肠壁肠腔一侧有很多指状突起,便是微绒毛。选择较为完整的微绒毛观察,可见由单层柱状上皮组成,有大量的柱状细胞及一些杯状细胞,两者交错紧密排列(图 1-2-6)。注意观察:①哪些是柱状细胞,哪些是杯状细胞;②更换不同的标本片观察,看看杯状细胞的多寡是否有差异;③细胞核的形状和位置。