



全国高校素质教育教材研究编审委员会审定

“十一五”国家重点图书出版规划教材

# 医学细胞生物学与遗传学 实验技术

张秀军 陈静 主编



军事医学科学出版社

全国高校素质教育教材研究编审委员会审定  
“十一五”国家重点图书出版规划教材

# 医学细胞生物学与遗传学 实验技术

张秀军 陈 静 主编

军事医学科学出版社

·北京·

---

图书在版编目(CIP)数据

医学细胞生物学与遗传学实验技术/张秀军,陈静主编.

-北京:军事医学科学出版社,2008.8

ISBN 978-7-80245-095-0

I. 医… II. ①张… ②陈… III. ①人体细胞学:细胞生物学

-实验-医学院校-教材 ②医学遗传学-实验-医学院校-教材

IV. R329.2-33 R394-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第120377号

---

出版:军事医学科学出版社

地址:北京市海淀区太平路27号

邮编:100850

联系电话:发行部:(010)63801284

63800294

编辑部:(010)66884418,86702315,86702759

86703183,86702802

传真:(010)63801284

网址:<http://www.mmsp.cn>

印装:京南印刷厂

发行:新华书店

---

开本:787mm×1092mm 1/16

印张:7.75

字数:150千字

版次:2008年9月第1版

印次:2008年9月第1次

定价:21.50元

---

本社图书凡缺、损、倒、脱页者,本社发行部负责调换

# 医学细胞生物学与遗传学实验技术

## 审定专家组名单

组 长：尹占国

副组长：李恒光 康熙雄 胡良平

组 员：任天池 钱超尘 王伯初

## 编写组名单

主 编 张秀军 陈 静

副主编 (按姓氏笔画排序)

张红梅 张岸平 李 明

陈 晶 赵 杰

参 编 王明艳 刘 鹏 邢朝斌

吴 鹏 李 超 沈海娥

赵亚龙 贾长虹 韩 黎

# 前 言

医学细胞生物学和医学遗传学是高等医学院校本科生的重要课程，属于医学基础课范畴，为医学生学习临床专业课程打下坚实的基础。两门课程的实验性都很强，同时医学科学的进展与细胞生物学和遗传学实验技术的不断提高和创新密不可分，故学习和掌握细胞生物学和遗传学的基本技术和实验方法，对于将来的医学工作者来说是非常必要的。

本教程是基于教育部制定的《中国本科医学教育标准》，核心是对细胞生物学和遗传学的实验课进行整合，突出经典实验内容和基本技能培养。目前，由于各医学院校实验学时不多，可开设的实验内容有限，现有的实验教材因其量大面广而不太适合使用。因此，华北煤炭医学院生物科学系在多年教学积累的基础上，参考和借鉴兄弟院校的有关实验教材，编写了这本实验教程，以便教师在实验指导和医学本科生学习时作为参考。编写本教程的目的旨在使学生掌握细胞生物学、遗传学研究的基本操作技能，从细胞生物学和遗传学的角度分析医学中的问题，从而加深理解理论知识，为医学生将来独立进行医学科学研究打下基础。

我们主要选编了与医学相关的实验内容，由于现代细胞生物学和遗传学两个学科之间相互渗透、联系紧密，且都已成为生命科学重要的前沿学科，其发展日新月异，都已经进入分子水平，新方法、新技术也是层出不穷。因此，除了经典的细胞和遗传实验外，我们又增加了一些与现代医学相关的新技术。

鉴于医学发展迅速和编写人员水平所限，本教材难免会有不足和疏漏之处，敬请读者批评指正。

E-mail: zhangxiujun66@yahoo.com.cn

张秀军

2008年5月

于华北煤炭医学院

# 目 录

## 上篇 医学细胞生物学

实验一 光学显微镜的结构与使用	1
一、实验材料、器具和试剂	4
二、实验步骤	4
思考与讨论	9
实验二 细胞的基本形态结构与生物绘图	10
一、实验材料、器具和试剂	11
二、实验步骤	12
思考与讨论	15
实验三 临时装片标本制备及显微测量	16
一、实验材料、器具和试剂	17
二、实验步骤	17
思考与讨论	19
实验四 渗透与扩散	20
一、渗透吸水——质壁分离	21
二、扩散	22
三、结果分析	23
思考与讨论	23
实验五 细胞器观察及线粒体的活体染色	24
一、实验材料、器具和试剂	26
二、实验步骤	26
三、试剂配方	28
思考与讨论	28

实验六 细胞分裂的形态观察	29
一、实验材料、器具和试剂	30
二、实验步骤	30
三、作业与思考	35
思考与讨论	35
实验七 动物细胞培养	36
一、实验材料、器具和试剂	36
二、实验步骤	37
思考与讨论	41
实验八 光学显微镜观察细胞骨架	42
一、实验材料、器具和试剂	43
二、实验步骤	43
思考与讨论	44
实验九 细胞凝集反应	46
一、实验材料、器具和试剂	47
二、实验步骤	47
思考与讨论	47
实验十 细胞核和线粒体的分离	48
一、大鼠肝线粒体的分离	51
二、实验步骤	51
三、玉米线粒体的分离	53
思考与讨论	53
实验十一 动物染色体标本的制备与观察	55
一、实验材料、器具和试剂	57
二、实验步骤	57
思考与讨论	58
实验十二 植物染色体标本的制备与观察	60
一、实验材料、器具和试剂	61
二、实验步骤	61

思考与讨论 .....	63
-------------	----

## 下篇 医学遗传学

实验一 人 X 染色体的制备及染色体核型分析 .....	64
一、实验材料、器具和试剂 .....	65
二、实验步骤 .....	65
三、结果辨析 .....	67
思考与讨论 .....	67
实验二 人类的皮肤纹理分析 .....	69
一、实验材料和器具 .....	71
二、实验步骤 .....	71
思考与讨论 .....	74
实验三 人类单基因性状的遗传分析 .....	75
一、实验材料、器具和试剂 .....	75
二、实验步骤 .....	75
思考与讨论 .....	79
实验四 系谱分析 .....	80
一、实验步骤 .....	80
实验五 单基因遗传病的 PCR 检测——亨廷顿舞蹈症 .....	83
一、实验材料、器具和试剂 .....	84
二、实验步骤 .....	85
思考与讨论 .....	86
实验六 单基因遗传病 PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳 .....	87
一、实验材料、器具和试剂 .....	88
二、实验步骤 .....	89
三、结果辨析 .....	90
思考与讨论 .....	90



实验七 人类遗传病 .....	92
一、实验材料 .....	92
二、实验步骤 .....	93
思考与讨论 .....	93
实验八 果蝇的性别鉴定、性状观察及饲养方法 .....	94
一、实验材料、器具和试剂 .....	94
二、实验步骤 .....	95
思考与讨论 .....	98
实验九 分离定律的验证 .....	99
一、实验材料、器具和试剂 .....	100
二、实验步骤 .....	100
三、实验数据处理 .....	102
思考与讨论 .....	102
实验十 自由组合定律的验证 .....	103
一、实验材料、器具和试剂 .....	104
二、实验步骤 .....	104
三、实验数据处理 .....	105
思考与讨论 .....	106
实验十一 果蝇的唾腺染色体的制备与观察 .....	107
一、实验材料、器具和试剂 .....	107
二、实验步骤 .....	107
思考与讨论 .....	109
实验十二 果蝇的伴性遗传 .....	110
一、实验材料、器具和试剂 .....	111
二、实验步骤 .....	111
三、实验数据处理 .....	112
思考与讨论 .....	113

# 上篇 医学细胞生物学

## 实验一 光学显微镜的结构与使用



图 1-1

From ancient times, man has wanted to see things far smaller than could be perceived with the naked eye.

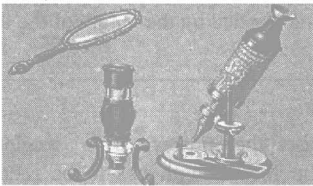


图 1-2

This led to the construction, in the 16th century, of a magnifier composed of a single convex lens, and this, in turn, led to the eventual development of the microscope.

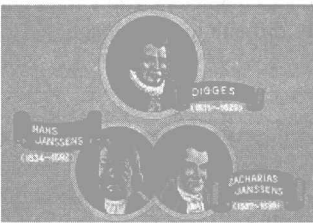


图 1-3

Perhaps the most famous early pioneers in the history of the microscope are Digges of England and Hans and Zcharias Janssen of Holland.

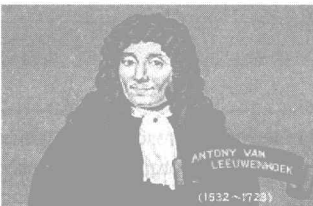


图 1-4

But it was Antony van Leeuwenhoek who became the first man to make and use a real microscope.

Leeuwenhoek ground and polished a small glass ball into a lens with a magnification of  $270\times$ , and used this lens to make the world's first practical microscope.

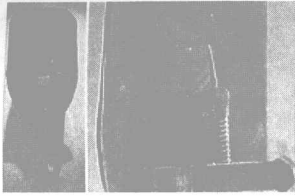


图 1-5

Because it had only one lens, Leeuwenhoek's microscope is now referred to as a single-lens microscope. Its convex glass lens was attached to a metal holder and was focused using screws.

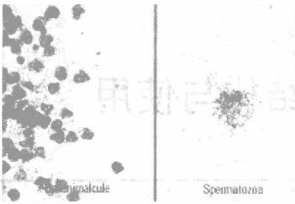


图 1-6

After his historic invention, Leeuwenhoek continued to devote himself to studies base on the microscope. His discoveries included bacteria, bellanimalcules and spermatozoa. Leeuwenhoek actually constructed a total of 400 microscopes during his prolific lifetime.

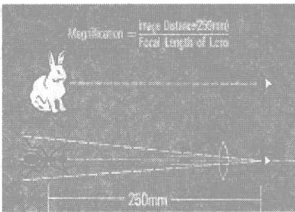


图 1-7

The magnification ratio of a single-lens microscope like the one invented by Leeuwenhoek is calculated in the same way as calculations are made for a simple magnifying glass.

250mm--accepted to be the distance of most distinct vision--is divided by the length of the lens.

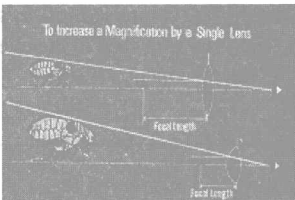


图 1-8

To increase the power of a single-lens microscope, the focal length has to be reduced. However, a reduction in focal length necessitates a reduction of the lens diameter, and after a point, the lens becomes difficult to see through.

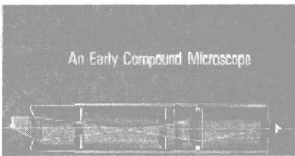


图 1-9

To solve this problem, the compound microscope system was invented in the seventeenth century. This type of microscope incorporates more than one lens so that the image magnified by one lens can be further magnified by another.

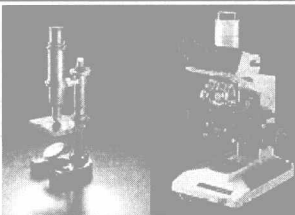


图 1-10

Today, the term "microscope" is generally used to refer to this type of compound microscope.

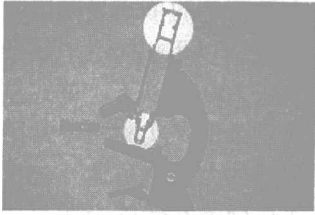


图 1-11

In the compound microscope, the lens closer to the object to be viewed is referred to as the “objective”, while the lens closer to the eye is called the “eyepiece”.

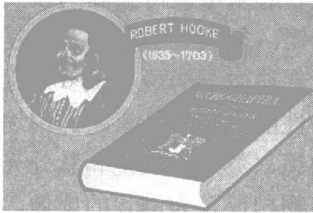


图 1-12

Since its invention, the compound microscope has made tremendous contributions to the progress of science. Using a compound microscope that he had built himself, the 17th-century Englishman Robert Hooke discovered the fact that living things are composed of cells.

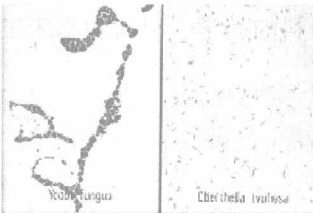


图 1-13

In the medical world, Louis Pasteur of France used a compound microscope to discover yeast fungus, while Karl J. Ebert, a German bacteriologist, employed a compound microscope in his discovery of Eberthella Typhosa.

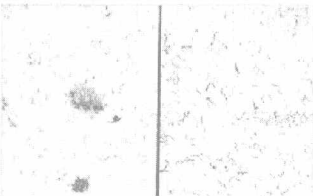


图 1-14

It was also a compound microscope that Robert Koch discovered tubercle and cholera bacilli.

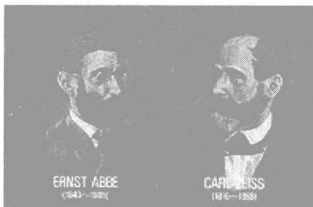


图 1-15

The 19th century saw dramatic progress in the development of the microscope, thanks to the contributions of such great minds as Carl Zeiss, who devoted significant effort to the manufacture of microscopes, Ernst Abbe, who carried out a theoretical study of optical principles, and Otto Schott, who conducted research on optical glass.

Cited from: <http://www.az-microscope.on.ca/history.htm>

光学显微镜 (Light microscope) 是以可见光作光源, 利用光学原理, 把肉眼所不能分辨的微小物体放大成像, 以供人们观察微细结构信息的光学仪器。

显微镜可分为单式显微镜和复式显微镜两类。最简单的单式显微镜就是通常所说的扩大镜,由一个透镜组成,放大倍数常在 10 倍以下。构造稍复杂的单式显微镜称为解剖镜,由几个透镜组成,放大倍数在 200 倍以下。单式显微镜放大的图像与实物方向一致,即直立的虚像。复式显微镜是实验室中常用的显微镜,由两组以上的透镜组成,结构较复杂,其有效放大倍数可达 1 250 倍,最高分辨力为  $0.2\ \mu\text{m}$  ( $1\ \mu\text{m} = 1/1\ 000\ \text{mm}$ )。复式显微镜在性能上明显优于单式显微镜:一是把几个放大倍数较小的凸透镜组合起来可获得很高的放大率;二是制造工艺较简单,不必磨制一个个极小的透镜。复式显微镜的发明是科学史上的里程碑,人类从此开始认识微观世界。复式显微镜的种类很多,除一般常用的普通(也称明视野)显微镜外,还有几种性能不同,具有特殊用途的显微镜,如暗视野显微镜、相差显微镜、偏光显微镜、荧光显微镜和紫外光显微镜等。在复式显微镜镜下看到的图像的方向与实物相反,为倒置的虚像。

光学显微镜是生物科学和医学研究领域常用的仪器,它在细胞生物学、遗传学、组织学、病理学、微生物学及其他相关学科的教学、科研和临床工作中有着极为广泛的用途。

## 一、实验材料、器具和试剂

### (一) 实验材料

e 字片、红绿羊毛片、鸡血涂片、草履虫装片标本。

### (二) 实验器具与仪器

普通光学显微镜、擦镜纸。

### (三) 实验试剂

香柏油或液体石蜡(石蜡油)、擦镜液(乙醚:无水乙醇 = 7:3)。

## 二、实验步骤

### (一) 显微镜的结构

普通光学显微镜的构造主要分为三部分:机械部分、照明部分和光学部分。

#### 1. 机械部分

(1) 镜座:是显微镜的底座,用以支持整个镜体。

(2) 镜柱:是镜座上面直立的部分,用以连接镜座和镜臂。

(3) 镜臂:一端连于镜柱,另一端连于镜筒,是取放显微镜时的手握部位。

(4) 镜筒:连在镜臂的前上方,镜筒上端装有目镜,下端装有物镜转换器。

(5) 物镜转换器(旋转器):接于棱镜壳的下方,可自由转动,盘上有 3~4

个圆孔，是安装物镜部位，转动转换器，可以调换不同倍数的物镜，当听到碰叩声时，方可进行观察，此时物镜光轴恰好对准通光孔中心，光路接通(图 1-16)。



图 1-16

(6) 镜台(载物台): 在镜筒下方, 形状有方、圆两种, 用以放置玻片标本, 中央有一通光孔, 我们所用的显微镜其镜台上装有玻片标本推进器(推片器), 推进器左侧有弹簧夹, 用以夹持玻片标本, 镜台下有推进器调节轮, 可使玻片标本做左右、前后方向的移动。

(7) 调节器: 是装在镜柱上的大小两种螺旋, 调节时使镜台做上下方向的移动。

① 粗调节器(粗螺旋): 大螺旋称粗调节器, 移动时可使镜台做快速和较大幅度的升降, 所以能够迅速调节物镜和标本之间的距离使物象呈现于视野中, 通常在使用低倍镜时, 先用粗调节器迅速找到物象。

② 细调节器(细螺旋): 小螺旋称细调节器, 移动时可使镜台缓慢地升降, 多在运用高倍镜时使用, 从而得到更清晰的物象, 并借以观察标本的不同层次和不同深度的结构。

2. 照明部分 装在镜台下方, 包括反光镜、集光器等。

(1) 反光镜: 装在镜座上面, 可向任意方向转动, 它有平、凹两面, 其作用是将光源光线反射到聚光器上, 再经通光孔照明标本, 凹面镜聚光作用强, 适于光线较弱的时候使用, 平面镜聚光作用弱, 适于光线较强时使用。

(2) 集光器(聚光器): 位于镜台下方的集光器架上, 由聚光镜和光圈组成, 其作用是把光线集中到所要观察的标本上。

① 聚光镜: 由一片或数片透镜组成, 起汇聚光线的作用, 加强对标本的照明, 并使光线射入物镜内, 镜柱旁有一调节螺旋, 转动它可升降聚光器, 以调节视野中光亮度的强弱。

② 光圈（虹彩光圈）：在聚光镜下方，由十几张金属薄片组成，其外侧伸出一柄，推动它可调节其开孔的大小，以调节光量。

### 3. 光学部分

(1) 目镜：装在镜筒的上端，通常备有 2~3 个目镜，上面刻有“5×”、“10×”或“15×”符号以表示其放大倍数，一般装的是“10×”的目镜。

(2) 物镜：物镜安装在镜筒下端的转换器上，因接近观察的物体，故又称接物镜。其作用是将物体作第一次放大，是决定成像质量和分辨能力的重要部件。最短的刻有“10×”符号的为低倍镜，较长的刻有“40×”符号的为高倍镜，最长的刻有“100×”符号的为油镜，此外，在高倍镜和油镜上还常加有一圈不同颜色的线，以示区别。

物镜上通常标有数值孔径、放大倍数、镜筒长度、焦距等主要参数。如：NA 0.30; 10×; 160/0.17; 16 mm。其中“NA 0.30”表示数值孔径 (numerical aperture, NA)，“10×”表示放大倍数，“160/0.17”分别表示镜筒长度和所需盖玻片厚度 (mm)，16 mm 表示焦距。物镜上的镜口率反应该镜头分辨力的大小，其数字越大，表示分辨力越高，各物镜的镜口率如表 1-1 所示。

表 1-1 各物镜的镜口率

物 镜	镜口率 (NA)	工作距离 (mm)
10×	0.25	5.40
40×	0.65	0.39
100×	1.30	0.11

表中的工作距离是指显微镜处于工作状态（物象调节清楚）时物镜的下表面与盖玻片（盖玻片的厚度一般为 0.17 mm）上表面之间的距离，物镜的放大倍数愈大，它的工作距离愈小。

显微镜的放大倍数：是物镜的放大倍数与目镜的放大倍数的乘积，如物镜为 10×，目镜为 10×，其放大倍数就为  $10 \times 10 = 100$ 。

显微镜物象是否清楚不仅取决于放大倍数，还与显微镜的分辨力 (resolution) 有关，分辨力是指显微镜（或人的眼睛距目标 25 cm 处）能够分辨物体最小间隔的能力，分辨力的大小决定于光的波长和镜口率以及介质的折射率，用公式表示为：

$$\text{显微镜的分辨力: } R = 0.61\lambda/NA$$

$$NA = \eta \cdot \sin\alpha/2$$

式中： $\eta$  = 标本和物镜之间介质折射率； $\alpha$  = 镜口角（标本对物镜镜口的张角），NA = 数值孔径 (numerical aperture)。镜口角总是要小于  $180^\circ$ ，所以， $\sin\alpha/2$  的最大值必然小于 1。

制作光学镜头所用的玻璃折射率为 1.65~1.78, 所用介质的折射率越接近玻璃的折射率越好 (见表 1-2)。对于干燥物镜来说, 介质为空气, 镜口率一般为 0.05~0.95; 油镜头用香柏油为介质, 镜口率可接近 1.5。普通光线的波长为 400~700 nm, 因此显微镜分辨力数值不会小于 0.2  $\mu\text{m}$ , 人眼的分辨力是 0.2 mm, 所以一般显微镜设计的最大光学放大倍数通常为 1 000 $\times$ 。

表 1-2 不同介质的折射率

介 质	空 气	水	香柏油	A 溴萘
折射率	1	1.33	1.515	1.66

## (二) 显微镜的使用方法

### 1. 低倍镜的使用方法

(1) 取镜和放置: 显微镜平时存放在柜或箱中, 用时从柜中取出, 右手紧握镜臂, 左手托住镜座, 将显微镜放在自己左肩前方的实验台上, 镜座后端距桌边 3~7cm 为宜, 以便于操作。

(2) 对光: 用拇指和中指移动旋转器 (切忌手持物镜移动), 使低倍镜对准镜台的通光孔 (当转动听到碰叩声时, 说明物镜光轴已对准镜筒中心)。打开光圈, 上升集光器, 并将反光镜转向光源, 以左眼在目镜上观察 (右眼睁开)、同时调节反光镜方向, 直到视野内的光线均匀明亮为止。

(3) 放置玻片标本: 取一玻片标本放在镜台上, 一定要使有盖玻片的一面朝上, 切不可放反, 用推片器弹簧夹夹住, 然后旋转推片器螺旋, 将所要观察的部位调到通光孔的正中。

(4) 调节焦距: 以左手按逆时针方向转动粗调节器, 使镜台缓慢地上升至物镜距标本片约 5 mm 处, 应注意在上升镜台时, 切勿在目镜上观察。一定要从右侧看着镜台上升, 以免上升过多, 造成镜头或标本片的损坏。然后, 两眼同时睁开, 用左眼在目镜上观察, 左手顺时针方向缓慢转动粗调节器, 使镜台缓慢下降, 直到视野中出现清晰的物象为止。

如果物象不在视野中心, 可调节推片器将其调到中心 (注意移动玻片的方向与视野物象移动的方向是相反的)。如果视野内的亮度不合适, 可通过升降集光器的位置或开闭光圈的大小来调节, 如果在调节焦距时, 镜台下降已超过工作距离 (>5.40 mm) 而未见到物象, 说明此次操作失败, 则应重新操作, 切不可心急而盲目地上升镜台。

### 2. 高倍镜的使用方法

(1) 选好目标: 一定要先在低倍镜下把需进一步观察的部位调到中心, 同时把物象调节到最清晰的程度, 才能进行高倍镜的观察。



(2) 转动转换器, 调换高倍镜头, 转换高倍镜时转动速度要慢, 并从侧面进行观察(防止高倍镜头碰撞玻片), 如高倍镜头碰到玻片, 说明低倍镜的焦距没有调好, 应重新操作。

(3) 调节焦距: 转换好高倍镜后, 用左眼在目镜上观察, 此时一般能见到一个不太清楚的物象, 可将细调节器的螺旋逆时针移动 0.5~1 圈, 即可获得清晰的物象(切勿用粗调节器)。

(4) 如果视野的亮度不合适, 可用集光器和光圈加以调节, 如果需要更换玻片标本时, 必须顺时针(切勿转错方向)转动粗调节器使镜台下降, 方可取下玻片标本。

### 3. 油镜的使用方法

(1) 在使用油镜之前, 必须先经低、高倍镜观察, 然后将需进一步放大的部分移到视野的中心。

(2) 将集光器上升到最高位置, 光圈开到最大。

(3) 转动转换器, 使高倍镜头离开通光孔, 在需观察部位的玻片上滴加一滴香柏油, 然后慢慢转动油镜, 在转换油镜时, 从侧面水平注视镜头与玻片的距离, 使镜头浸入油中而又不以压破载玻片为宜。

(4) 用左眼观察目镜, 并慢慢转动细调节器至物象清晰为止。

(5) 如果不出现物象或者目标不理想需要重找, 在加油区之外重找时应按低倍→高倍→油镜程序。在加油区内重找应按低倍→油镜程序, 不得经高倍镜, 以免油沾污镜头。

(6) 油镜使用完毕, 先用擦镜纸沾少许二甲苯将镜头上和标本上的香柏油擦去, 然后再用干擦镜纸擦干净。

### (三) 显微镜使用的注意事项

1. 持镜时必须是右手握臂、左手托座的姿势, 不可单手提取, 以免零件脱落或碰撞到其他地方。

2. 轻拿轻放, 不可把显微镜放置在实验台的边缘, 以免碰翻落地。

3. 保持显微镜的清洁, 光学和照明部分只能用擦镜纸擦拭, 切忌用口吹、手抹或用布擦, 机械部分可用布擦拭。

4. 水滴、酒精或其他药品切勿接触镜头和镜台, 如果沾污应立即擦净。

5. 放置玻片标本时要对准通光孔中央, 且不能反放玻片, 防止压坏玻片或碰坏物镜。

6. 要养成两眼同时睁开的习惯, 以左眼观察视野, 右眼用以绘图。

7. 不要随意取下目镜, 以防止尘土落入物镜, 也不要任意拆卸各种零件, 以防损坏。

8. 使用完毕后, 必须复原才能放回镜箱内, 其步骤是: 取下标本片, 转