高等院校精品课程实验教材
GAODENG YUANXIAO JINGPIN KECHENG SHIYAN JIAOCAI

医学生物学
实验指导

主　编　张咏莉　黄清松
副主编　陈爱葵

華中科技大學出版社
http://www.hustp.com

高等院校精品课程实验教材

医学生物学实验指导

YIXUESHENGWUXUESHIYANZHIDAO

主　编　张咏莉　黄清松
副主编　陈爱葵
主　审　李红枝
编　委　（按姓氏笔画排序）
毛建文　王　昕　丘淑玲
张咏莉　李白霓　李红枝
陈爱葵　陈红梅　郑　敏
黄清松　詹　苗　魏凤香

华中科技大学出版社
中国·武汉

图书在版编目(CIP)数据

医学生物学实验指导/张咏莉　黄清松　主编. —武汉：华中科技大学出版社，2008年9月
ISBN 978-7-5609-4794-5

Ⅰ.医…　Ⅱ.①张…　②黄…　Ⅲ.医学：生物学-实验-医学院校-教学参考资料　Ⅳ.R318-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第107920号

医学生物学实验指导　　张咏莉　黄清松　主编

策划编辑：胡章程
责任编辑：荣　静　　封面设计：潘　群
责任校对：祝　菲　　责任监印：周治超

出版发行：华中科技大学出版社(中国·武汉)
武昌喻家山　邮编：430074　电话：(027)87557437

录　排：华中科技大学惠友文印中心
印　刷：华中科技大学印刷厂

开本：710mm×1000mm　1/16　印张：6.25　插页：3　字数：112 000
版次：2008年9月第1版　印次：2008年9月第1次印刷　定价：12.80元
ISBN 978-7-5609-4794-5/R·104

(本书若有印装质量问题，请向出版社发行部调换)

前　言

医学生物学技术极大地推动了生命科学的发展。细胞生物学技术和医学遗传学技术的不断发展和完善，使医学生物学的实验手段更加迅速地、广泛地渗透到生命科学的各个领域。近些年来，随着分子生物学实验方法的不断更新，细胞生物学和医学遗传学已经成为各门学科的前沿增长点，并成为推动医学、药学教学和科研发展的领头学科，其实验方法也有了前所未有的飞跃，其应用范围也有了史无前例的扩大。在此形势下，细胞生物学和医学遗传学实验都有了不同程度的改善，一些旧的实验方法被不断地改进和摒弃，同时一些较新的研究方法和技术不断地涌现出来。为了适应生命科学发展的需要，也为了更好地培养各高等院校学生的基本技术操作技能和实际动手能力，提高学生的创新能力和科研思维能力，培育出21世纪的新型复合型人才，特编写了《医学生物学实验指导》一书，本书也是各同类高等医药院校普遍适用的一本实验手册。

《医学生物学实验指导》共分为两篇。第一篇为细胞生物学实验部分(共15个实验)，第二篇为医学遗传学实验部分(共10个实验)，并附有部分实验图片、实验所用试剂、实验作业等。本书中所选用的内容是以本教研室多年的教学工作实践和对外交流而建立起来的常规学生实验为基础，在此基础上，又以上海第二军医大学、中山医学院等院校本科教学所开设的细胞生物学和医学遗传学实验为参照，并补充了一些在教学、科研中较常用的分子生物学和分子遗传学实验内容，使本书的内容更加丰富和完善。本教材具有可行性、实用性和通用性等优点，希望能给更多的读者带来更大的益处。

总体来讲，本教材可供各高等医药院校本、专科各专业学生使用，也可供具有大学专科以上学历的医药工作者以及研究生在科研工作中学习、参考。

本教材在编写过程中得到了广东药学院生物教研室的所有老师的大力支持和协作，在此一并表示感谢。

此外，本教材在编写过程中由于时间有限，再加上水平不足、经验不够，难免在技术、文字、编排等各个环节存在着疏漏和错误之处，敬请读者给予批评指正，多提宝贵意见，以便今后更好地改正和补充。

编　者

2008年2月于广州

目　　录

生物学实验规则……………………………………………………………………… (1)
第一篇　细胞生物学实验…………………………………………………………… (3)
实验一　光学显微镜的结构和使用………………………………………………… (5)
实验二　细胞的基本结构…………………………………………………………… (9)
实验三　细胞内化学成分的显示 ………………………………………………… (11)
实验四　细胞生理活动的观察 …………………………………………………… (14)
实验五　细胞线粒体的显示 ……………………………………………………… (18)
实验六　细胞骨架的显示和观察 ………………………………………………… (20)
实验七　大白鼠的解剖 …………………………………………………………… (22)
实验八　家兔的解剖 ……………………………………………………………… (28)
实验九　生殖细胞的减数分裂 …………………………………………………… (38)
实验十　显微测微尺的构造和使用 ……………………………………………… (41)
实验十一　真核细胞的传代培养 ………………………………………………… (43)
实验十二　培养细胞的观察、计数及活力测定…………………………………… (46)
实验十三　真核细胞的外源基因转染与检验 …………………………………… (51)
实验十四　细胞融合实验 ………………………………………………………… (53)
实验十五　细胞凋亡的观察与检测 ……………………………………………… (55)
第二篇　医学遗传学实验 ………………………………………………………… (59)
实验十六　小白鼠骨髓细胞染色体的制备 ……………………………………… (61)
实验十七　染色体观察及 X 染色质鉴定方法 …………………………………… (64)
实验十八　人类染色体核型分析 ………………………………………………… (68)
实验十九　大白鼠骨髓细胞染色体 G 带的制备 ………………………………… (71)
实验二十　红细胞 G-6-PD 活性的测定 ………………………………………… (74)
实验二十一　小鼠骨髓嗜多染红细胞微核检测 ………………………………… (76)
实验二十二　人类基因组 DNA 的提取 ………………………………………… (79)
实验二十三　聚合酶链式反应(PCR)技术 ……………………………………… (82)
实验二十四　单链构象多态性(SSCP)分析技术………………………………… (87)
实验二十五　荧光原位杂交(FISH)技术………………………………………… (89)
附图 ………………………………………………………………………………… (93)
参考文献 …………………………………………………………………………… (97)

此为试读,需要完整PDF请访问: www.ertongbook.com

生物学实验规则

(1) 学生应在规定或预约的时间按时进行实验，不得无故缺席或迟到。实验时间如需变动，要经过实验室批准。

(2) 学生在每次实验前要认真做好实验预习，并在预习的基础上写出预习报告。

(3) 学生进入实验室后，不准大声喧哗，不得乱抛纸屑、杂物等。

(4) 实验时应携带必要的物品，如文具、计算器、草稿纸和作图纸等。

(5) 实验前学生要检查实验桌上的各种仪器、物品是否与实验册上说明的要求相符，如有不符立即报告指导教师，不允许自行取用其他实验桌上的仪器、物品。

(6) 要爱护仪器，在了解仪器的性能及使用方法后方能进行实验。实验时严格按照操作步骤进行，未经指导教师许可，不准擅自动手。

(7) 进入实验室后，学生应核对自己使用的仪器有无缺少或损坏，若发现问题，应向指导教师或实验室管理人员提出。借用的仪器在实验完毕后应及时归还。

(8) 要细心观察仪器构造，谨慎操作，严格遵守操作规程及注意事项。对电泳实验，线路接好后，先经指导教师或实验室管理人员检查无误后才可接通电源，以免发生意外。

(9) 测量结束应将数据交给指导教师检查，实验合格者予以签字通过，否则要重测或补测。

(10) 要保持实验室整洁、安静。实验完毕后应将仪器、桌椅恢复原状，放置整齐，并由值日同学做好实验室卫生清洁工作。

(11) 仪器如有损坏，应及时报告指导教师或实验室管理人员，说明损坏原因，赔偿办法根据学校规定处理。

(12) 实验完毕后，要清理仪器并整理放好，如有损坏和缺少，要报告指导教师，允许后方可离开。

第一篇　细胞生物学实验

实验一　光学显微镜的结构和使用

实验目的

了解显微镜的结构和功能，掌握其使用和保护方法。

实验原理

光学显微镜是利用光线照明使微小物体影像放大的仪器，其物镜和目镜都相当于一个凸透镜，由于被检标本是放在物镜下方的1～2倍焦距之间，故物镜可使标本在物镜的上方形成一个倒立的放大实像，该实像正好位于目镜的焦平面之内，目镜进一步将它放大形成一个虚像，通过调焦可使虚像落在眼睛的明视距离处，在视网膜上形成一个直立的实像。

实验材料

毛发玻片、口腔上皮细胞玻片、显微镜、擦镜纸、镜头水、纱布、小毛巾。

实验内容

一、显微镜的结构

显微镜的结构主要分为三部分：机械部分、照明部分和光学部分，详见图1-1。

（一）机械部分

（1）镜座：显微镜的底座，用于稳定和支持全镜。

（2）镜柱：连接镜座和镜臂，用于支持显微镜的其他部分。

（3）镜臂：位于镜柱上方，支持连接镜筒。

（4）单筒镜座：在镜筒下方一个底为近方形、上面前后各为倾斜面的装置。在左下方有一个旋钮，拧紧后可固定镜筒位置。

（5）镜筒：在整体的最上端的一个圆筒状结构，有目镜套入其内。

（6）载物台：与镜柱相垂直连接的黑色方形台，台上可放置观察的玻片，台的中央有一圆孔，能让光线通过，称为通光孔，其上有一标本夹，用于固定玻片。在载物台下方还有一组合螺旋，转动上一节螺旋可使载物台纵向移动，转动下一节螺旋可使载物台横向移动。

（7）粗调节器：转动时可使载物台以较快速度升降，顺时针方向转动可使平台

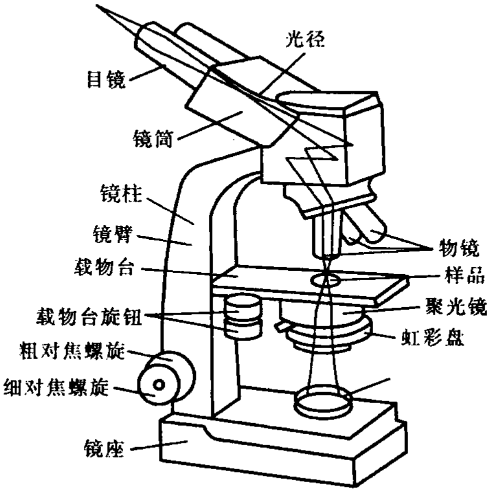

图 1-1　显微镜的结构

上升，逆时针方向转动则使平台下降，适合于低倍镜观察时使用，其上有一限位圈，用于固定载物台的位置。

(8) 细调节器：转动时可使载物台以缓慢速度升降，适合于高倍镜、油镜或低倍镜调整清晰度时使用。

(9) 物镜转换盘：位于镜筒下方的圆盘，其下有 4 个物镜孔，均安装不同放大倍数的物镜，转动转换盘，可以更换不同放大倍数的物镜。

（二）照明部分

(1) 反光镜：位于载物台的下方，可向各方移动，使光线能反射到载物台上的圆孔中去。反光镜分凹面和平面，凹面镜适于在弱光或高倍镜观察时使用，平面镜适于在强光或低倍镜观察时使用。

(2) 聚光镜：位于载物台的下方，是一组用来集中光线的透镜，它可使光线聚集，增加视野的亮度。聚光镜上有升降螺旋，上升时可增强反射光，下降时则减弱反射光。

(3) 光圈：装在聚光镜底部的圆环内，由一组金属片组成，在圆环外缘有一突起的小柄，拨动它能使金属片分开或合拢，用于控制光线的强弱。

（三）光学部分

显微镜的光学部分是显微镜的主要部分

(1) 目镜：插在镜筒上端接近眼睛的镜头，在镜身上刻有“10×”、“15×”等字样，表示放大倍数为 10 倍或 15 倍。在目镜中常有一根用毛发制成的针状物，称为指针，通常用于指示标本中的具体部位。

(2) 物镜：嵌在转换盘下方的镜头，一般有以下三种。

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

① 低倍镜：放大倍数为 10 倍的物镜，其上刻有 10/0.25 等字样，其中 10 表示放大倍数，0.25 表示镜口率。低倍镜所观察的视野较宽。

② 高倍镜：放大倍数为 40 倍的物镜，其上刻有 40/0.65 和 160/0.17 字样，其中 0.17 表示所需盖玻片的厚度为 0.17 mm。高倍镜观察物体的范围较窄。

(3) 油镜：放大倍数为 100 倍的物镜，用此镜时必须在玻片上滴加香柏油，以减少光的折射，增加照明度。

显微镜的放大倍数＝目镜放大倍数×物镜放大倍数

二、显微镜的使用

（一）低倍镜的使用

(1) 准备：将显微镜放在实验桌上，靠近自己的左前方离桌缘 5 cm 左右，载物台向前，镜臂朝向自己。

(2) 对光：转动大螺旋使载物台下降，转动旋转盘使低倍镜对准载物台中央的通光孔，可通过改变反光镜的角度，调节聚光镜、改变光圈的开启，直到镜内整个视野均匀发亮。

(3) 置片：将要观察的标本放在载物台上，有盖玻片的一面朝上，要使观察的标本位于载物台上通光孔的中心处。

(4) 调焦：转动粗调节器，将载物台降至最低，用左眼自目镜向下看，慢慢上升粗调节器，直至视野中出现标本的物像为止。如图像不够清晰，则可用细调节器使物像更清晰。

请思考：显微镜下成的是倒立的像，如要观察原视野左边的图像，应如何移动玻片？

（二）高倍镜的使用

先在低倍镜下找到物像，将要观察的部位移到视野中央，然后转动旋转盘，转换高倍镜，转换时速度要慢，并要从侧面注视物镜下端是否触动玻片，使高倍镜对准通光孔，转动细调节器到物像清晰为止。另外，高倍镜要求较强的光线。

三、显微镜的保护

(1) 实验前应检查显微镜是否完整，若缺损，应立即报告指导教师，切勿自行修理，以便查清原因。

(2) 显微镜的光学部分只能用擦镜纸蘸少许镜头水擦拭，擦时要直擦，不要转圈，其他部分可用绸布或纱布擦净。

(3) 实验完毕后，切记将玻片从显微镜中取出放回玻片盒，将物镜移开，使其不与镜筒成直线，将显微镜放回箱中，锁好，放回原处。

四、操作练习

(1) 观察毛发玻片，找到两根毛发的交叉点，见附图 1-1。

（2）观察口腔上皮细胞玻片，找到口腔上皮细胞，见附图 1-2。

作业

（1）使用高倍镜时要注意什么问题？

（2）从低倍镜转用高倍镜后，如果看不到物像，可能有哪几种原因？如何调整？

（3）绘制口腔上皮细胞图。

附　生物学显微绘图的要求

（1）生物学绘图用具：铅笔（HB、3H）、直尺、橡皮。

（2）画图前应仔细观察标本，画图时将报告纸放在显微镜右侧，两眼睁开，左眼观察标本，右眼观察画图。

（3）选择完整的典型的标本作为画图对象，按从显微镜所观察到的标本实际形状，适当按比例放大绘图，放大时图中各种构造的大小应与实物成正比例。

（4）绘图时先用铅笔轻轻绘出图的轮廓，修改后再以粗细均匀的线条绘出全图。通常细胞膜以细线表示，细胞质以稀疏的小圆点表示，细胞核以密集的小圆点表示。注意加点时铅笔必须竖直。

（5）图的注释中从各部分结构作出水平向右的引线，引线与报告纸上下平行，长度适当，末端对齐。引线不能相互交叉，结构名称写于引线末端。图的下方要注明该图的名称及显微镜的放大倍数。

（黄清松）

实验二　细胞的基本结构

实验目的

通过观察动、植物细胞，掌握光镜下细胞的形态结构，学会制作临时玻片。

实验材料

洋葱鳞茎、人口腔黏膜上皮细胞、载玻片、盖玻片、显微镜、镊子、刀片、吸管、牙签、平皿，1%中性红染液。

实验内容

一、植物细胞的观察：洋葱鳞茎表皮细胞制片

(1) 临时制片。用镊子在洋葱鳞茎内表面撕下一小块半透明膜质表皮(应尽量薄些)，用解剖针或牙签推平，吸一滴中性红染液滴在标本上，染色 5～10 min。用镊子夹取一块盖玻片盖在标本上(加盖时应避免形成气泡和使洋葱表皮卷曲)，用吸水纸吸去盖玻片周围多余的染液，再稍加蒸馏水冲洗。

(2) 观察。将制好的临时玻片标本置于显微镜载物台上，先在低倍镜下观察(见附图 2-1)，在许多彼此紧密连接的长方形细胞中选取较典型的细胞，移至视野中央，然后换成高倍镜来观察细胞的细胞壁、细胞质和细胞核(见附图 2-2)。

细胞壁：在每两个细胞相连处，可看到两层壁状结构，是相邻细胞各自的细胞壁，细胞膜紧贴在细胞壁内侧，不易看到。

细胞核：染成紫红色，呈椭圆形或圆形，一般在细胞中央，成熟的细胞内由于受液泡的挤压，细胞核被挤到细胞膜的边缘，细胞核一般有 1～2 个核仁。

细胞质：细胞膜内，细胞核以外的物质，染色较浅，有若干个液泡。

二、人口腔黏膜上皮细胞观察

(1) 临时制片。用牙签轻轻地刮口腔壁的内侧，将刮出物连同牙签一起丢在专用的大平皿中，再在原位轻刮 2～3 次，将刮下的黏膜上皮细胞涂在清洁的载玻片上(涂时注意不能来回涂，顺着一个方向只涂一次，为什么?)，滴 1～2 滴 1%中性红染液，染色 5 min，盖上盖玻片，用吸水纸吸去多余的染液。

(2) 观察。把做好的玻片置于低倍镜下观察，可见到细胞核呈椭圆形，染成紫红色，而细胞质浅染，有的细胞散在，有的则成片存在。转成高倍镜仔细观察，见附图 2-3。

作业

绘制高倍镜下洋葱鳞茎表皮细胞图，并标明主要结构。

附　试剂配制

（1）1%中性红的配制：将中性红 0.5 g、林格氏液 50 mL 于 30～40 ℃下溶解，滤纸过滤，置于棕色瓶中保存。

（2）林格氏液：将 NaCl 8.05 g、KCl 0.42 g、$CaCl_2$ 0.18 g 用双蒸水 100 mL 溶解。

（黄清松）

实验三　细胞内化学成分的显示

实验目的

了解显示细胞内化学成分的检测方法及一般原理。

实验材料

马铃薯、洋葱鳞茎、蛙血涂片、光学显微镜、载玻片、盖玻片、镊子、解剖刀、革兰氏碘液、甲基绿-派洛宁染液。

内容和方法

一、淀粉的显示

（一）原理

淀粉是一种植物性多糖，储藏于植物的种子、块茎和块根中。淀粉遇碘呈蓝色反应是由于碘被吸附在淀粉上，形成了碘化淀粉之故。

（二）方法

（1）生马铃薯徒手切片。

（2）选取一薄片放在载玻片上，用吸管吸取一滴革兰氏碘液滴于马铃薯薄片上，盖上盖玻片。

（3）在低倍镜下观察，可见多角形的薄壁细胞中有许多椭圆的蓝色颗粒即淀粉粒，见附图 3-1。

二、唾液淀粉酶的显示

（一）原理

唾液淀粉酶存在于人或其他高等动物的唾液中，能将淀粉分解为麦芽糖，淀粉遇碘呈蓝色反应，而麦芽糖遇碘不显色。

（二）方法

（1）将口漱净。

（2）用吸管吸一滴食用醋滴在舌尖上，唾液即开始分泌。

（3）把消毒棉签含入口中，待棉签湿透后取出，置于小烧杯中。

（4）用刀片刮取熟透的马铃薯少许，等量分别置于载玻片的两端。

(5) 用吸管吸取唾液一滴，滴于载玻片一端的马铃薯上，再用另一吸管吸取蒸馏水一滴，加于载玻片另一端的马铃薯上，静置 30 min。

(6) 在载玻片的两端分别加碘液一滴，观察两端的颜色反应，结果如何？为什么？

三、细胞内 DNA 和 RNA 的显示

(一) 原理

DNA 位于细胞核内，甲基绿能把 DNA 染成蓝色或绿色，而细胞质和核仁中的 RNA 能被派洛宁染成红色。

(二) 方法

1. 洋葱表皮细胞 DNA 和 RNA 的显示

(1) 取洋葱鳞茎表皮，用剪刀剪下一小块置于玻片上。

(2) 用吸管吸取甲基绿-派洛宁染液，滴一滴于洋葱表皮上，染色 30～40 min。

(3) 用吸管吸取一滴蒸馏水冲洗表皮，并立即用吸水纸吸干，因为派洛宁易脱色。

(4) 盖上盖玻片，置于显微镜下进行镜检，可见细胞质和核仁呈淡红色，表明其含有 RNA，而核质呈蓝色，表明其含有 DNA。

2. 蛙血涂片 DNA、RNA 的显示

(1) 制备蛙血涂片：用吸管吸取已用生理盐水保存的蛙血液一小滴，滴在已擦净的载玻片一端，取另一干净的载玻片以 45°倾斜将血液涂成很薄的一层，晾干。

(2) 70%的乙醇固定 5～10 min，室温晾干。

(3) 加一滴甲基绿-派洛宁染液，染色 20 min。

(4) 蒸馏水冲洗，用吸水纸吸去多余水分。

(5) 在光镜下检查，可见细胞核呈蓝色，细胞质呈淡红色。

作业

(1) 绘制细胞内淀粉粒的分布图。

(2) 绘制细胞内 DNA、RNA 的分布图。

附 革兰氏染液的配制

(1) 将碘化钾 1 g 溶于 50 mL 蒸馏水中，再加入 0.5 g 碘使之溶解，用蒸馏水稀释至 150 mL，盛于棕色瓶中，保存于暗冷处。

(2) 2%甲基绿染液：称取 2 g 去杂质的甲基绿粉溶于 0.2 mol/L 的醋酸缓冲液 100 mL 中。

甲基绿中往往混有杂质甲基紫，此杂质可影响染色效果，必须预先除去。其方

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com