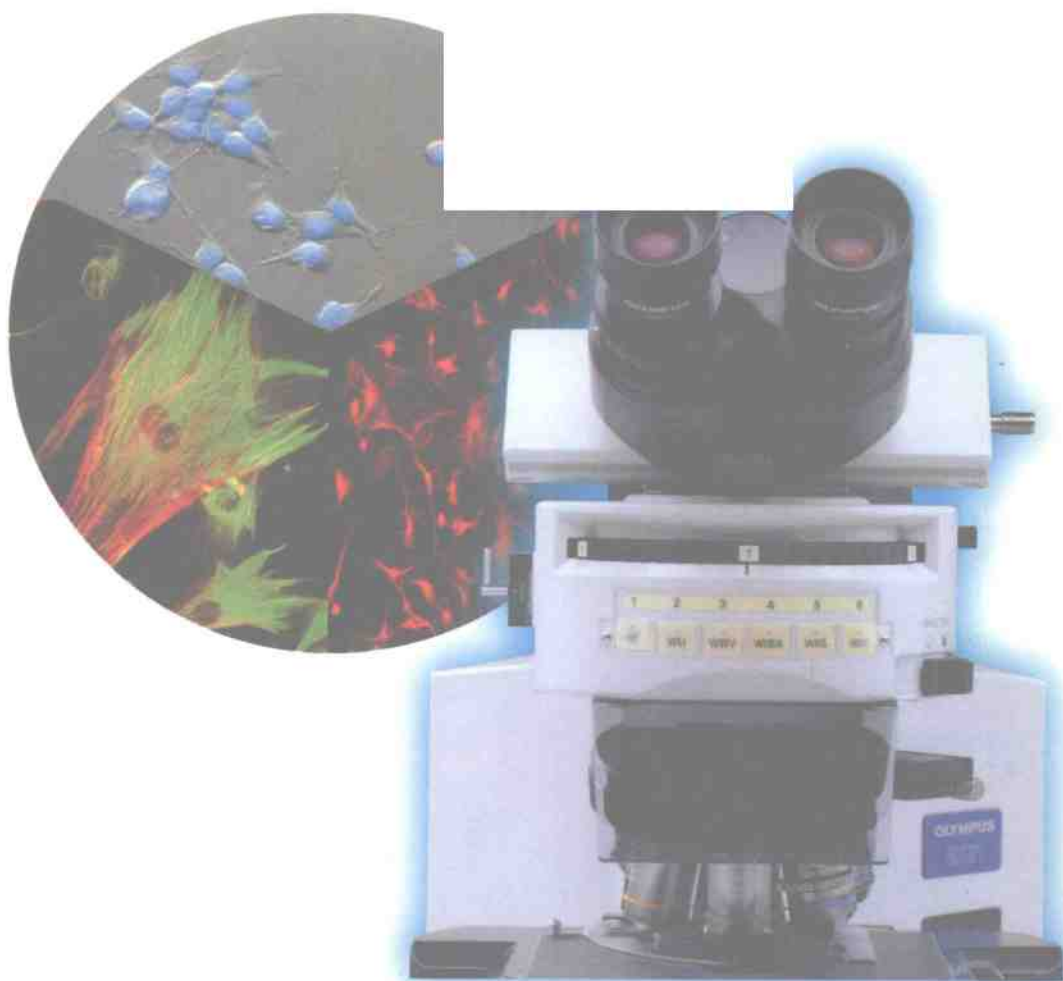


高等医药院校教材

医学细胞生物学 实验指导

刘艳平 / 主编

湖南科学技术出版社



YIXUE XIBAO SHENGWUXUE SHIYAN ZHIDAO

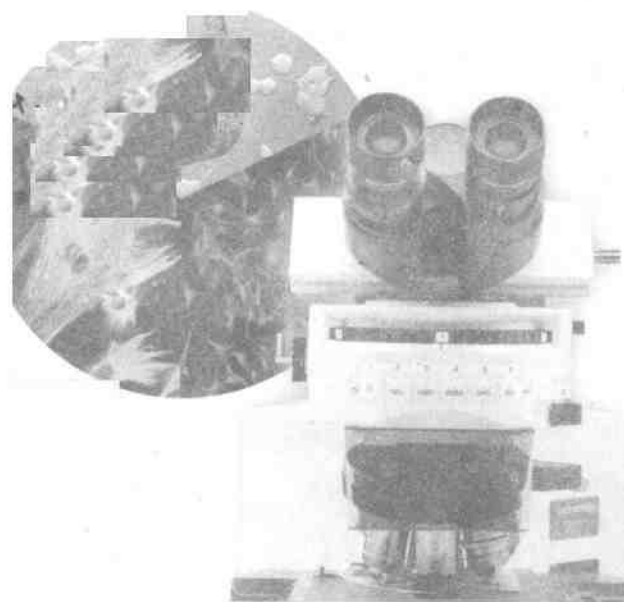
高等医药院校教材

医学细胞生物学 实验指导

主编 / 刘艳平

编者 (按姓氏笔画为序)

刘艳平 刘 静 李忠魁 肖桥斌
何莉芳 周汨波 郑 杰



 湖南科学技术出版社

高等医药院校教材

医学细胞生物学实验指导

主 编：刘艳平

责任编辑：陈一心

出版发行：湖南科学技术出版社

社 址：长沙市湘雅路 280 号

<http://www.hnstp.com>

印 刷：湖南飞碟新材料有限责任公司
衡阳印务分公司

(印装质量问题请直接与本厂联系)

厂 址：湖南省衡阳市黄茶岭光明路 21 号

邮 编：421008

经 销：湖南省新华书店

出版日期：2002 年 8 月第 2 版第 3 次

开 本：787mm×1092mm 1/16

印 张：5.75

字 数：132000

书 号：ISBN 7-5357-2237-7/R·451

套书定价：24.00 元（共两册） 本册定价：12.00 元

(版权所有·翻印必究)

编写说明

细胞生物学是生命科学中的前沿学科，也是医学教育的重要基础学科。近年来，细胞生物学发展迅速，新概念、新内容、新技术不断涌现。细胞生物学实验方法和技术在现代生命科学研究中得到广泛应用。

本书是根据当前高等医药院校教学大纲及教学改革要求编写而成的。共编入了26个实验，内容涉及显微镜技术、细胞显微结构及超微结构、细胞化学、细胞生理、细胞分裂、细胞培养、细胞融合、染色体制备技术、细胞凋亡检测、细胞器的分离与分析等方面。编写的每一个实验项目，对实验原理、技术方法及注意事项都有详细的阐述，并附有试剂的配制、思考题及作业等。

本书适用于医药院校、综合性大学本科生和研究生的细胞生物学实验课教学。使用者可根据教学内容、教学时数及经费设备等情况酌情选用。

由于编者水平有限，书中难免有不妥之处，敬请老师和同学们提出宝贵意见，以便进一步修改和完善。

刘艳平

2002年5月

目 录

绪言	(1)
实验一 普通光学显微镜的构造及使用	(3)
实验二 细胞的基本形态与结构	(8)
实验三 细胞的显微测量	(13)
实验四 细胞内酸性蛋白和碱性蛋白的显示	(15)
实验五 细胞膜的通透性	(17)
实验六 细胞的超微结构	(19)
实验七 DNA 和 RNA 的测定	(27)
实验八 细胞周期	(30)
实验九 减数分裂	(33)
实验十 小白鼠骨髓细胞染色体的制备及实验动物核型观察	(40)
实验十一 人体外周血淋巴细胞培养和染色体标本的制备	(43)
实验十二 人类染色体常规核型分析	(46)
实验十三 人类染色体 G 显带法及 G 带核型分析	(49)
实验十四 性染色质的制备及观察	(53)
实验十五 姊妹染色单体交换	(55)
实验十六 微核测定法	(58)
实验十七 毛囊细胞核仁组织区银染法	(60)
实验十八 动物细胞原代培养	(62)
实验十九 细胞传代培养	(64)
实验二十 死活细胞的鉴别	(66)
实验二十一 细胞计数	(68)
实验二十二 鸡红细胞的融合	(70)
实验二十三 培养细胞的融合	(72)
实验二十四 早熟凝集染色体制备	(74)
实验二十五 凋亡细胞的形态学检测	(78)
实验二十六 细胞器的分离	(81)

绪 言

一、实验课的目的和任务

医学细胞生物学实验课是整个教学中必不可少的重要组成部分。通过一系列的不同形式的实验课教学,使学生理论联系实际,加深、巩固课堂上所学的基本理论知识。通过实验,进行基本技能训练,使学生学会操作、观察和分析,培养学生独立思考、独立操作能力以及实事求是的科学态度。

二、实验报告的要求

实验报告是科学的记录,同学们必须学会如何将操作、观察的结果,客观真实地予以记载。实验报告形式可以分为文字报告、绘图、列表三种。

(一) 文字报告

文字报告要求同学们将实验结果实事求是地记录、分析,客观地用文字予以记述。文字报告要简明扼要、条理清楚、数字准确。

(二) 绘图

绘图是生物学实验中最常用的报告形式,绘图的基本要求是:

1. 绘图力求真实、准确,应根据观察的标本或显微镜下的图像按比例大小绘在实验图纸上,比例、位置要适当,不能虚构、夸张。

2. 绘图时应用尖细的硬铅笔,将所要描绘的实物准确地用单线画出。除在特殊情况下经教师布置以外,一般作图都不用其他笔代替。

3. 作图时应以点线为主,用线条表示图的范围,用点的疏密表示图的明暗。注意打点时铅笔须竖直,要求点成小圆点,不能用铅笔涂施暗影。

4. 绘制显微镜下的标本时应把报告纸放在右侧,两眼张开,左眼观察镜内标本,同时右眼看纸绘图。

5. 图绘完毕后在图的下方注明图的标题。图中各结构名称用尺引出平行线,平行线的末端要在一直线上,名称注于线的末端。

(三) 列表

将实验结果或观察所得,设计一适当的表格,将有关结果逐项填入,以表示其相互关系,便于互相比较。

三、实验规则和注意事项

(一) 每次实验前应预习本次实验及教材中有关内容,了解本次实验目的和实验原理,熟悉实验操作方法和步骤。

(二) 上实验课时应携带实验指导、教材、实验报告本和文具用品,并穿好工作服。

(三) 进入实验室后,按排定的座次入坐,使用已配备好的显微镜、实验材料和标本用具等,不得随意调换或携出实验室。

(四) 实验课应保持肃静,不得高声谈笑或随意走动。

(五) 实验要遵守实验操作规程,按照教师的安排和实验指导的要求认真进行,仔细观察,做好实验报告,按时完成作业。

(六) 爱护国家财产,节省实验材料,珍惜各种仪器设备、标本和药品,如有损坏,立即报告老师,主动登记,按章处理。

(七) 实验完毕,应清理实验台面,将实验用具洗净、擦干,放回原处。废弃物放到指定地方,保持教室干净,并由组长指派两人搞好室内卫生,处理垃圾,关好门、窗、水、电,方可离开实验室。

(刘艳平)

朱熹的告解书

图说(二)

图说(三)

邵雍的卦图

实验一 普通光学显微镜的构造及使用

一、目的要求

- (一) 熟悉普通光学显微镜的基本构造和性能。
- (二) 熟练掌握显微镜的使用技术。

二、实验用品

- (一) 器材：普通光学显微镜（双目镜筒或单目镜筒类型）。
- (二) 材料：擦镜纸、纱布、镜油瓶或二室瓶。
- (三) 药品：无水乙醇、乙醚、香柏油。

三、内容与方法

光学显微镜简称光镜。它是借助光所形成的像来观察并研究物体细微结构的精密光学仪器，是医学教学、临床工作及科学研究诸领域中广泛使用的重要观测工具。

(一) 显微镜的构造及性能

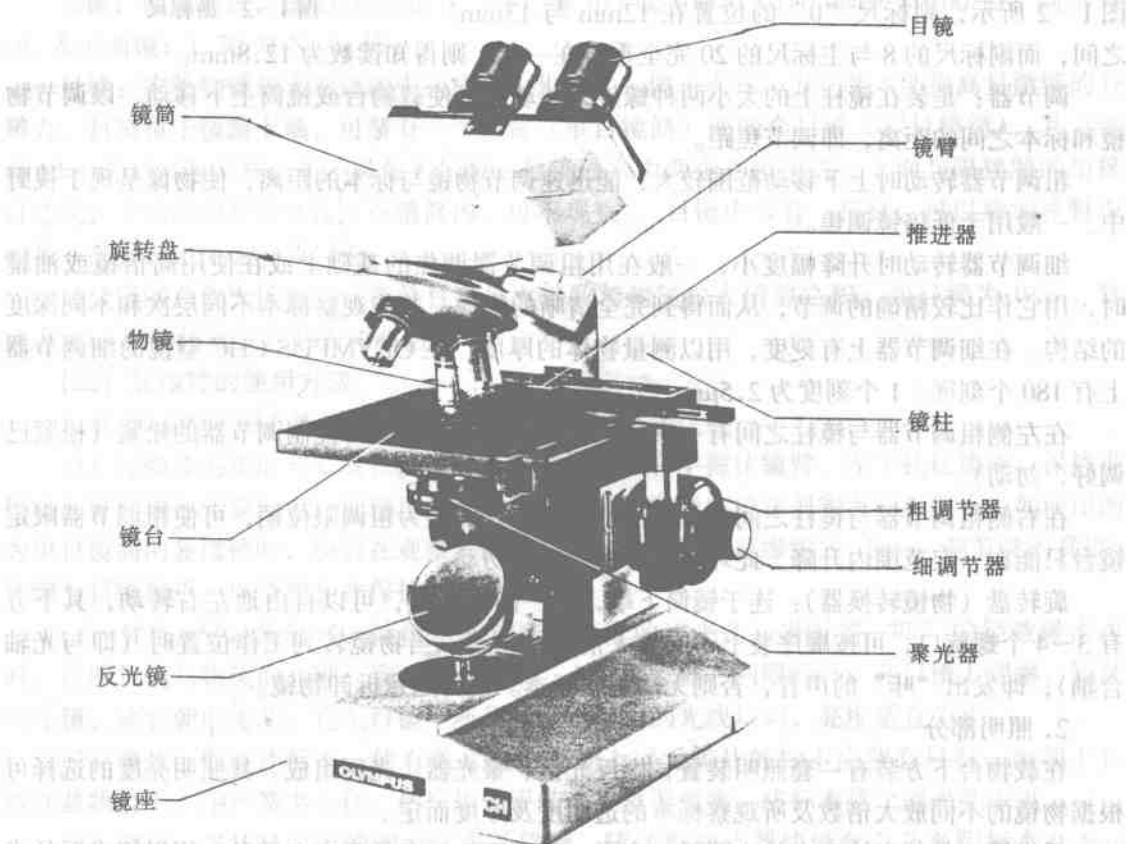


图 1-1 双目镜筒显微镜的构造

光学显微镜由机械部分、照明部分和光学部分构成。

1. 机械部分

由精密而牢固的零件组成，包括如下构造：

镜座：是显微镜的基座，位于最底部。通常呈长方形或马蹄形，用以支持和稳固镜体，其上装有照明部分的反光镜。

镜柱：是镜座上方垂直的柱形粗大部分，上端与弯曲的镜臂相连。在其两侧有突出的圆形螺旋，为调节器。

镜臂：紧接镜柱顶部并向前弯曲，上端与镜筒相连，也是取用显微镜时手握之处。

镜筒：是连于镜臂前或上方的结构，呈圆筒状或矩形，顶部装有目镜（单目或双目）。

镜台（载物台）：与镜柱相连，为一块方形（或圆形）平板，用以放置标本。镜台中央有一圆形通光孔，由反光镜反射来的光线经此孔射向标本。镜台上装有推进器。

推进器：位于镜台后部。在镜台左下方有上下两个同轴螺旋，转动时，可使推进器前后或左右移动。推进器上装有可动的弹簧夹，用于固定玻片标本。

位于推进器后方与侧面上有纵横游标尺，用以测量标本在视野中的位置和长度。它由主标尺 m 和副标尺 n 组成。主标尺刻有 1mm 的分度；副标尺刻有 $9/10\text{mm}$ 的分度，读数为 0.1mm 。使用时首先看副标尺“0”的位置，然后看与主标尺相重叠的一致点，如图 1-2 所示，副标尺“0”的位置在 12mm 与 13mm

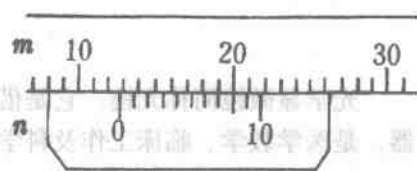


图 1-2 游标尺

之间，而副标尺的 8 与主标尺的 20 完全重合在一起，则得知读数为 12.8mm 。

调节器：是装在镜柱上的大小两种螺旋，转动时可使载物台或镜筒上下移动，以调节物镜和标本之间的距离，即调节焦距。

粗调节器转动时上下移动范围较大，能迅速调节物镜与标本的距离，使物像呈现于视野中。一般用于低倍镜调焦。

细调节器转动时升降幅度小，一般在用粗调节器调焦的基础上或在使用高倍镜或油镜时，用它作比较精确的调节，从而得到完全清晰的物像，并能观察标本不同层次和不同深度的结构。在细调节器上有刻度，用以测量物体的厚度，在 OLYMPUS-CHC 型镜的细调节器上有 180 个刻度，1 个刻度为 $2.5\mu\text{m}$ 。

在左侧粗调节器与镜柱之间有一窄环，称为松紧调节环。可控制调节器的松紧（松紧已调好，勿动）。

在右侧粗调节器与镜柱之间有一具小柄的窄环，此柄为粗调限位柄，可使粗调节器限定镜台只能在一定范围内升降，此环已锁好，初学者勿动。

旋转盘（物镜转换器）：连于镜筒下端，为一凸形圆盘，可以自由地左右转动，其下方有 3~4 个螺旋口，可按顺序装上不同放大倍数的物镜。当物镜转到工作位置时（即与光轴合轴），即发出“咔”的声音，否则无法观察标本。请勿随意拆卸物镜。

2. 照明部分

在载物台下方装有一套照明装置，由反光镜、聚光器、光阑组成。其照明亮度的选择可根据物镜的不同放大倍数及所观察标本的透明度及厚度而定。

反光镜：是装在镜座上的小圆镜，有平、凹两面，可向任意方向转动。用以把光源的光线反射入聚光器中，再经过通光孔照明标本。反光镜的凹面镜聚光力强，适于光线较弱时使

用,在光线较强时,宜选用平面镜。在使用平面镜时,有时会在视野内出现窗框或窗外景物,可将聚光器略下降以消除物像的干扰。

聚光器:位镜台通光孔下方,由一组透镜组成,可将光线汇集成束,以增强照明作用。会聚后的光线经通光孔射至标本上。在聚光器的侧下方(右或左侧)有一小螺旋,转动时可升降聚光器。上升时,光线强;下降时则光线弱。

光阑(光圈):位于聚光器下方,由一组金属薄片组成。其侧面有一小黑柄,移动时可使光阑开闭。当光阑开大,则光线较强,适于观察色深标本;光阑缩小,则光线较弱,适于观察透明(或无色)的标本。

光源:可以是天然光源或人工光源,随情况而定。

3. 光学部分

由物镜和目镜组成。

物镜:是决定显微镜质量、分辨力和放大倍数最关键的光学部分。物镜壁上刻有主要性能参数,按放大倍数不同,分述如下:

低倍镜:镜筒最短,镜面直径最大。筒上刻有10或10×字样,即表示放大10倍。另刻有0.25字样为数值孔径(简称为N.A.),可反映该物镜的分辨力之大小,数值愈大,表示分辨力愈高。

高倍镜:镜筒较低倍镜筒长,镜面直径较小。筒上刻有40或40×字样,即放大40倍。尚刻有0.65及0.17字样,分别表示其N.A.及物镜要求的盖玻片厚度。

油镜:镜筒最长,镜面直径最小。筒上刻100或100×字样,即放大100倍。尚刻有HL表示油镜;1.30为N.A.值。

目镜:它将物镜放大形成的中间像进一步放大,便于观察,但它并不能提高显微镜的分辨力。目镜位于镜筒上端,可装有一个目镜(单目镜筒)或两个目镜(双目镜筒),其上刻有10×或15×等字样,表示其放大倍数。目镜通常由两个透镜组成,上面与眼接触的为接目透镜;下面的叫视野透镜(在镜筒内,可不观察)。目镜中装有一指针,可以指示视野中的某一部分,以便提问或讨论。

显微镜的总放大倍数的计算是目镜放大倍数与物镜放大倍数之积。如目镜为10×,物镜为40,则物体放大倍数为400倍。

(二) 显微镜的使用方法

1. 低倍镜的使用方法

(1) 显微镜的提取与安放:使用时,打开镜箱,右手握住镜臂,左手托住镜座,保持平稳状态轻轻放在实验台上。如使用的为双目镜筒的显微镜应放在观察者的正前方;如使用的为单目镜筒的显微镜时,应放在观察者的左前方。显微镜距桌缘约3~6cm。调节凳的高度,使眼与目镜接近,以便观察并保持姿势端正。

(2) 对光:转动旋转盘,使低倍镜对准镜台上的通光孔,当听到“咔”的轻微碰击声时,说明目镜与物镜的光轴一致。打开光阑,上升聚光器。两眼睁开,在目镜上观察,转动反光镜,使它朝向光源,直至目镜中所见视野范围内的光线均匀,亮度适宜为止。

(3) 置片:取玻片标本,使有盖片的一面朝上(无盖片的标本应使有材料一面朝上),放在载物台上,用弹簧夹夹住。然后用左手转动推进器螺旋,将标本移至通光孔中央。

(4) 调焦:先从显微镜的侧面注视低倍镜,转动粗调节器使镜台上升至距标本0.5cm处,根据显微镜类型各取下述方法继续操作:

①使用单目镜筒：用左眼从目镜中观察视野，同时右眼要张开。再慢慢转动粗调节器，使镜台慢慢下降，直到视野中出现物像为止。

②使用双目镜筒：首先调节双目镜间的距离，使之与观察者的瞳间距一致。调节时分别用双手的拇、食指把住目镜下黑色横板（双目镜筒间调节座）的边缘，向外拉或向内推，此时双目在两目镜上观察，直至看到一个大而明亮的视野为止，读出目镜筒间距数值。然后，旋转右镜筒长度补偿环的刻度值，使与双目镜筒间距数值一致并对准环下外侧的白色刻度线。再转动粗调节器，使镜台慢慢下降，直到右眼所观察的物像清晰。随后再旋转左镜筒长度补偿环，至物像清晰为止。通过以上操作，左右目镜的焦点已对好，此镜筒长就能保持物镜的放大倍数和同等焦距正确，并调节双目镜筒的距离和补偿观察者两眼的视度差。在操作时必须两眼张开，两手并用（右手操纵调节器，左手操纵推进器），并养成这种习惯。

2. 高倍镜的使用方法

先从低倍镜下看清物像并移到视野中央，然后可直接换用高倍镜观察。转换高倍镜时速度要慢，并从侧面观察，防止高倍镜碰撞玻片！转换好高倍镜后，从目镜上观察，慢慢转动细调节器（切勿用粗调节器，以防压碎玻片、损坏镜头），直至物像清晰为止。观察时如光线较弱，可调节照明系统，使光线适宜。如在视野内找不到物像，说明观察的目的物不在视野中央，或焦距不对，必须从低倍镜开始按上述过程重新操作。

3. 油镜的使用方法

把在高倍镜下观察的目的物，移至视野中央后，移开高倍镜，在玻片标本上滴一滴香柏油，眼睛从侧面注视镜头，轻轻转换油镜，使镜头浸在“油”中。观察时，只需略微转动细调节器，就能看清物像。

观察完毕后，转动旋转盘，移开油镜，转动粗调节器，使镜台下降，取下制片，在一块擦镜纸上滴加去油剂，擦净镜头上的香柏油，再另换一块干净擦镜纸再揩擦2次。有盖玻片的标本也按上法擦净，无盖玻片的标本不要擦。

四、使用显微镜的注意事项与维护

显微镜是贵重的精密仪器，要做到正确而熟练的使用，应注意如下事项。

（一）操作时注意事项

1. 放置玻片标本时，应特别注意有材料的一面朝上，切勿反放。反放对低倍镜影响不大，但当换用高倍镜或油镜时，不但在视野内找不到物像，而且容易损坏物镜上的透镜及标本。

2. 掌握粗、细调节器的转动方向与镜台升降的关系，调焦时一定要从侧面注视，使镜台上升至0.5cm处，然后再下降，以免压坏标本和镜头。

3. 在使用双目镜筒观察时，首先要调好双目的瞳间距及镜筒长度补偿环的数值刻度。

4. 观察任何标本时，都应从低倍镜开始。使用高倍镜，也要先在低倍镜下找到物像，并将所要观察的部分移至视野中央，再调到高倍镜。如使用油镜，也要按先低倍镜后高倍镜再油镜的顺序进行。

5. 观察色深的标本适于用较强的光线，观察透明或色浅的标本适于用较弱的光线。

6. 观察时姿势要端正，两眼都张开。左眼观察，左手调节焦距，右眼和右手则用于绘图。

（二）显微镜的维护

1. 按要求拿取显微镜，切勿单手提取，前后摆动，以免碰坏或使部件脱落。

2. 显微镜离实验台边缘应保持一定距离，以免翻倒落地。

3. 使用前要检查，发现问题，立即报告老师。
4. 不得随意拆卸任何部件，不得转动已锁好的部件。
5. 显微镜用前用毕都应擦拭干净。机械部分用纱布揩擦；光学部分和照明部分用擦镜纸揩擦，不得用手摸或用其他物品擦拭。
6. 转换物镜时，应使用旋转盘，不得用力拨动物镜头。
7. 不得将临时制片的水或药品沾污镜头和镜台。
8. 使用完毕，应降下镜台，取下玻片标本，旋转转换器，使物镜离开通光孔，并使三个物镜均向前方。再使镜台上升。将反光镜镜面与镜柱平行，最后将各部分揩净，将显微镜放回原处。

五、作业与思考题

(一) 作业

简述显微镜的使用过程及注意事项。

(二) 思考题

1. 使用显微镜时，是否光线愈强愈好？
2. 为什么在使用高倍镜或油镜时，必须从低倍镜开始观察？并把目标移至视野中央？
3. 显微镜下看到的物像是正像还是反像？物像与玻片的移动方向是否一致？

附录 其他几种显微镜简介

(一) 暗视野显微镜 (darkfield microscope): 分辨率较高，达 $0.2 \sim 0.004 \mu\text{m}$ ，能观察普通照明视野显微镜下所看不到的微粒子。它使用特殊的暗视野聚光器，使照射标本的光线不能进入物镜，而是倾斜的射在要观察的标本上，只有被标本表面反射或衍射的散射光进入物镜，因而在黑暗的视野中形成标本明亮的像。它以丁达尔 (Tyndall) 效应为基础，最适于观察未染色的活细胞的运动，但不能分辨物体内部微细结构。

(二) 相差显微镜 (phase contrast microscope): 利用特殊的相差装置——环状光阑和相板，观察未染色的活体组织和细胞结构。用环状光阑代替可变光阑，用具有相板的物镜代替普通物镜，当光波通过物体时波长 (颜色) 与振幅 (亮度) 发生变化而增大了物体明暗的反差，用来观察未染色的活体组织和细胞结构。

(三) 荧光显微镜 (fluorescence microscope): 是利用一个高效率发光的点光源，经过滤色系统发出一定波长的光 (紫外光或紫蓝光) 作为激发光，激发标本内的荧光物质转化为各种不同颜色的荧光 (可见光) 后，再通过物镜和目镜的放大进行观察。其基本结构是由普通光学显微镜加上一些附件 (如: 荧光光源、激光滤片、双色束分离器、阻断滤片等) 的基础上组成的。该镜主要用于细胞结构、功能及化学成分等研究用。

(四) 倒置显微镜 (inverted microscope): 是一种把照明系统置于载物台的上方，而把物镜置于载物台下方的显微镜。这种显微镜大大加长了载物台放置样品的高度，可放置培养皿、培养瓶等容器，来观察活体细胞和组织，观察标本状态，而且所观察的显微像是正像。

(刘艳平)

实验二 细胞的基本形态与结构

一、目的要求

- (一) 通过对动物、植物细胞的观察,掌握光镜下细胞和细胞器的基本形态结构。
- (二) 初步掌握临时制片的方法。
- (三) 学习生物显微绘图的方法。

二、实验用品

(一) 材料:蛙表皮玻片标本、神经细胞玻片标本、卵巢切片标本、人精子涂片标本、平滑肌装片标本、脊神经节切片标本、大白鼠胰腺切片标本、马蛔虫子宫横切片标本、洋葱鳞茎、大白鼠精子涂片、口腔上皮细胞。

(二) 器材:光学显微镜、解剖刀、镊子、剪刀、解剖针、载玻片、盖玻片、牙签、吸水纸、擦镜纸、纱布。

(三) 药品:2%碘液、詹纳斯绿染液或中性红-詹纳斯绿染液、Giemsa 染液。

三、内容与方法

(一) 临时玻片标本的制片与观察

1. 洋葱鳞叶表皮细胞制片与观察

取一洗净的载玻片,以左手拇指及中指夹住载玻片的两端,右手拇指及食指夹住纱布,轻轻擦拭玻片的两面,直到透明为止。

盖玻片的擦拭方法与载玻片相同,但盖玻片小而薄,擦拭时须格外小心,用力要均匀,否则容易破碎。

在载玻片中央滴一滴清水,在洋葱地下茎鳞叶的内侧面(即凹的一面)有一层膜状的半透明的表皮,用镊子轻轻撕下 $2\sim 3\text{mm}^2$ 大小的表皮一块,置载玻片水滴上,铺平,轻轻盖上盖玻片(加盖玻片的方法:用镊子轻轻夹住盖玻片的一侧或用拇指、食指夹住两侧,使盖玻片的另一侧先接触水滴,然后逐渐放下盖玻片,至完全平放在标本上为止)。置显微镜下观察,先用低倍镜再用高倍镜观察,可见许多长柱状排列整齐,彼此相连的细胞,其内有时可见到圆形的核。

在盖玻片一侧的边缘加碘液1滴(注意:不要将碘液加在盖玻片上),用吸水纸从相对的一侧吸水,引染液入盖玻片内,在低倍镜下选择一个较典型的细胞,移至视野中央,再转换高倍镜仔细观察以下结构:

(1) 细胞壁 (cell wall): 为细胞最外面的一层由纤维素组成的较厚的壁(它是植物细胞的重要特征之一)。细胞膜位于细胞壁内侧并与其紧密相贴,光学显微镜下不易分辨。

(2) 细胞核 (nucleus): 多位于细胞中部,染为深黄色的圆形或椭圆形结构,核内有一个或者几个颗粒状的核仁 (nucleolus)。

(3) 细胞质 (cytoplasm): 是细胞膜与细胞核之间的区域,其中有时可看到点状或泡状的液泡。

2. 人口腔粘膜上皮细胞制片与观察

在清洁的载玻片中央滴一滴碘液。用牙签的宽头轻刮自己口腔下唇的内侧或两侧颊部的上皮，将刮下的粘膜细胞洗于玻片碘液中（可能肉眼觉察不到），轻轻搅动，使细胞散开。盖上盖玻片，盖玻片与载玻片之间不能有气泡，也不能让碘液溢出盖玻片，如有多余的碘液，用吸水纸吸去。

将制好的临时玻片标本置于显微镜的载物台上，先用低倍镜观察，可见被染成黄色的细胞，成群或分散存在。选择完整而轮廓清楚没有重叠的细胞移至视野中央，再转高倍镜观察以下结构：

(1) 细胞膜 (cell membrane)：细胞呈扁平形，细胞的外面有一层薄膜叫细胞膜（如铺展不好，则细胞膜会出现皱褶）。

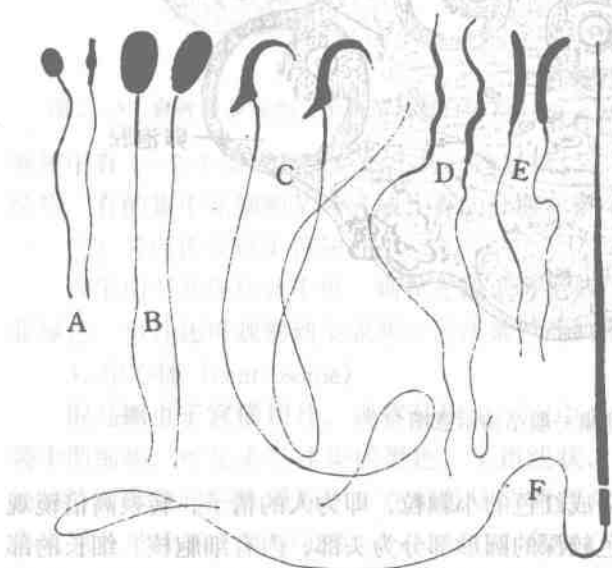
(2) 细胞核：位于细胞中部，染色较深，呈圆形或椭圆形，核中可见一致密的结构，即为核仁。

(3) 细胞质：是细胞膜与细胞核之间的区域，染色较浅。

3. 大白鼠的精子涂片及观察

取大白鼠的附睾头从中横切为两段，用镊子夹住，让切面在载玻片上轻轻涂（用力均匀不要太大，否则易使精子头部掉脱）。待干后，用吸管吸入 Giemsa 染液，滴于涂片上，染色 20 分钟，用水冲洗，然后插入玻片板上，待干进行观察。镜下可见，大白鼠的精子由头部、中部和尾丝三部分构成。（图 2-1）

4. 蟾蜍（或蛙）血涂片的制备与观察



A-人；B-绵羊；C-大白鼠；D-小鸡；E-蛙；F-蛭

图 2-1 不同种类脊椎动物的精子

将蟾蜍用乙醚麻醉后，剪开胸腔，打开心包，取心脏血滴一滴在洁净的载玻片一端，另取一块边缘平整的载玻片照图 2-2 做成较薄的血涂片晾干。先在低倍镜下，再用高倍镜观察。辨认红细胞，呈椭圆形，浅橙红色，中部可见一椭圆形的核。其他细胞不辨认。

(二) 细胞形态的观察

1. 扁平上皮细胞

取蛙表皮玻片标本，在低倍镜下观察，可见染成蓝绿色的薄膜，这是从蛙体表剥落下来的一层表皮。低倍镜下观察，可见染成深蓝色的圆形或椭圆形结构，这是细胞核，围绕细胞核的是细胞质，在细胞质的外围有深染的线

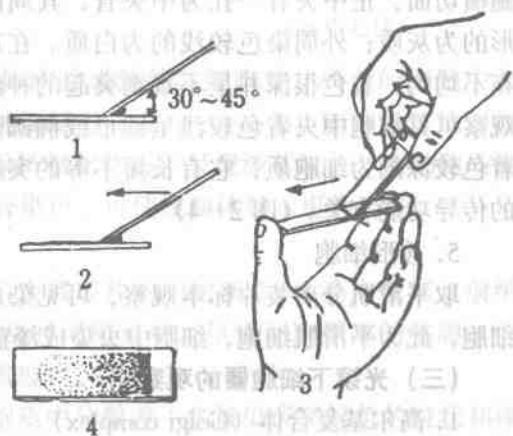


图 2-2 血涂片的制备方法

条,分隔各个细胞,可见蛙表皮细胞为排列紧密的多边形细胞。

2. 圆形细胞

取卵巢切片标本,置低倍镜下观察,在标本的外周部分可见到一些较普通细胞大很多的圆形卵细胞,呈淡红色。换高倍镜观察,可见卵细胞被染色较深的透明带包绕,透明带外又被染成红色的细胞围绕,称为放射冠。由于切片的原因,在视野中也可能看到没有经过细胞核的切面,因而只观察到细胞质而看不到细胞核。此外,成熟的卵细胞还可观察到卵泡腔。(图2-3)

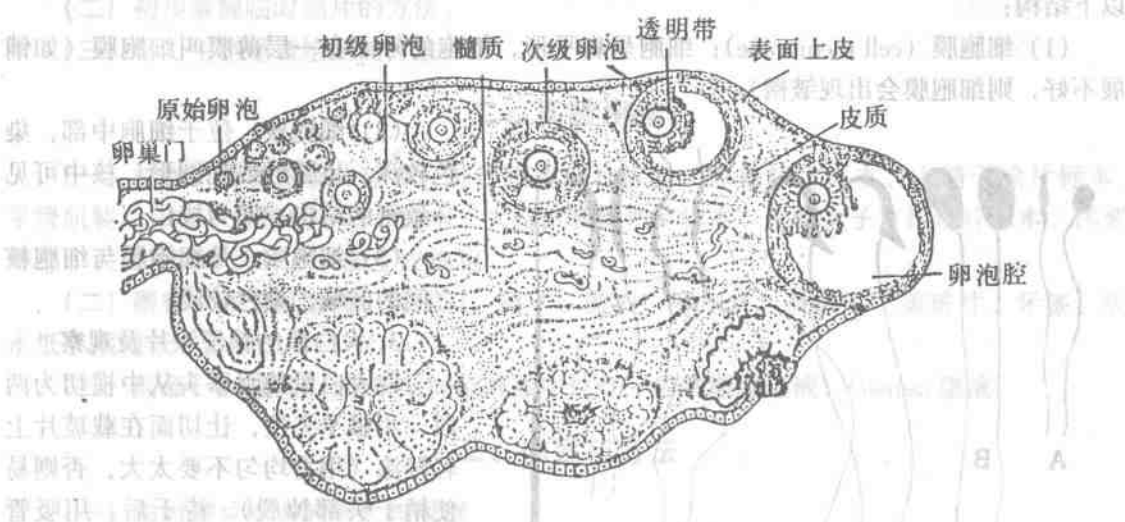


图2-3 卵巢一般结构示意图

3. 蝌蚪形细胞

取人精子涂片低倍镜观察,可见许多染成红色的小颗粒,即为人的精子,转换高倍镜观察,可观察到很多蝌蚪形细胞的精子,着色较深的圆形部分为头部,内有细胞核。细长的部分称为尾部,在头部与尾部之间有很短的颈部,但在标本上不易区分。

4. 星形细胞

取神经细胞银沉淀染色标本在低倍镜下观察,此为一脊髓横切面,正中央有一孔为中央管,其周围染色较深并呈H形的为灰质;外周染色较浅的为白质。在灰质里可见许多分布不均匀,着色很深并呈不规则突起的神经细胞,换高倍镜观察可见细胞中央着色较浅呈圆形或椭圆形的为胞核,周围着色较深的为细胞质,它有长短不等的突起,此与神经细胞的传导功能有关。(图2-4)

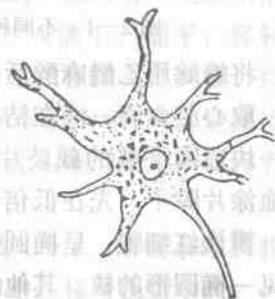


图2-4 猪脊髓前角神经细胞

5. 梭形细胞

取平滑肌分离装片标本观察,可见染成红色的呈梭形的细胞,此为平滑肌细胞,细胞中央染成淡蓝色的为细胞核,多呈圆形或椭圆形。

(三) 光镜下细胞器的观察

1. 高尔基复合体 (Golgi complex)

取豚鼠或家兔的脊神经节切片标本,观察高尔基复合体。用特殊的染色方法,使细胞质和其中的高尔基复合体着色,细胞核不着色。先用低倍镜观察,可见许多黄色椭圆形或不规

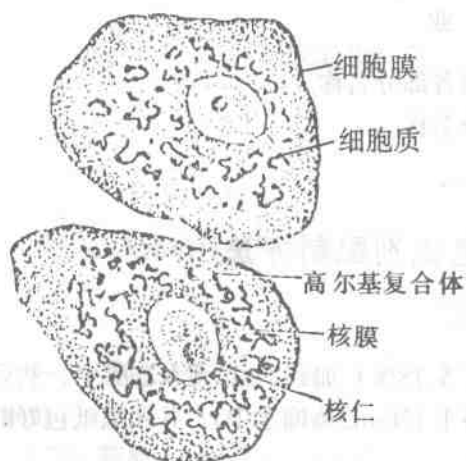


图 2-5 脊神经节细胞 (示高尔基复合体)

则形的神经细胞。找出细胞轮廓清楚的部位，转高倍镜观察，可见细胞的中央有一个不着色的圆形区域，即为细胞核。有些细胞核中可以看到黄色的核仁。在细胞核周围有些颗粒状、斑块状及扭曲的条索状结构，它们共同组成类似细网状结构，分布在胞质中，被染成黄褐色或棕黑色，这就是高尔基复合体。在视野中也可能看到没有经过细胞核的切面，该细胞内高尔基复合体就好像散布在整个细胞质中。(图 2-5)

2. 线粒体 (mitochondria)

(1) 苏木精染色法

取大白鼠胰脏切片，先用低倍镜找到细胞颜色较浅处，细胞轮廓较清晰的地方（由于细胞膜不着色，细胞轮廓不易分清），转高倍镜观察，

胞核中有 1~2 个染成蓝绿色的小粒，这是核仁，胞质中有许多染成蓝色的细小粒状或线状结构，有的集中在细胞某一区域，有的分散在整个细胞质中，这就是线粒体。

(2) 劳弗氏快蓝染色法

如果用劳弗氏快蓝染色，则在光镜下可见核仁被染成红色，核质不着色，线粒体则染成蓝绿色。另外还可观察到染成紫红色或紫色的酶原颗粒，呈堆状分散在细胞中。

3. 中心体 (centrosome)

取马蛔虫子宫横切片，观察马蛔虫子宫中受精卵分裂中期细胞，可见染色体染成黑色，呈粗线状，排列于细胞纺锤体中间的赤道面上。在染色体两侧各有一个被染成黑色的小粒，叫中心粒 (centrole)，在中心粒周围还有一团比较致密的物质叫中心球 (centrosphere)，中心粒和中心球合称为中心体。两个中心粒之间丝状的结构，称纺锤体。在视野中，有时只观察到只有一侧有中心体存在。(图 2-6)

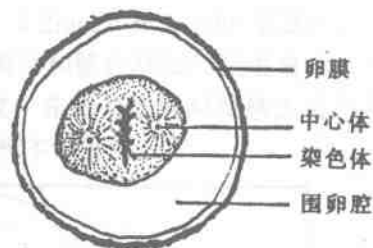


图 2-6 马蛔虫受精卵细胞 (示中心体)

(四) 线粒体的活体染色

1. 原理：线粒体广泛存在于各类细胞中，人体内除成熟的红细胞外，所有的细胞中都有线粒体。本法是显示口腔上皮内的线粒体。詹纳斯绿 B (Janus green B) 能特异性地对线粒体进行活体染色，使线粒体的细胞色素氧化酶保持氧化状态，呈现淡蓝绿色，而细胞质则被还原成无色区域。若用中性红-詹纳斯绿 B 混合染色，可使线粒体显示更为清楚。

2. 方法与步骤：

(1) 制片：将清洁的载玻片平放在桌上，然后在载玻片的中央滴 2~3 滴中性红-詹纳斯绿 B 染液。再用牙签粗端刮取口腔上皮细胞（刮时可稍重些，尽量刮取深部的粘膜，但以不刮出血为限）放入载玻片染液中混匀，盖上盖玻片，染色 2~3 分钟。

(2) 观察：高倍镜下可见口腔上皮细胞的细胞质中分散着一些被染成亮绿色的粒状和棒状的颗粒，即为线粒体。

四、作 业

1. 绘口腔上皮细胞、洋葱表皮细胞图，并注明各部分名称。

2. 绘所观察的各种细胞形态图，并注明各部分名称。

3. 绘脊神经节细胞图，写出各结构名称。

附录 线粒体活体染色试剂配制方法

中性红-詹纳斯绿 B 染液：

甲液：将 3 滴詹纳斯绿 B 饱和水溶液（溶解度 5.18%）加到 5mL 无水乙醇中，然后再加 1mL 的 1:15000 中性红水溶液（中性红 10mg 溶于 150mL 蒸馏水中），并用黑纸包好贮于冰箱中。

乙液：在 5mL 无水乙醇中，加 20~30 滴中性红饱和溶液（中性红溶解度为 5.64%）。

将甲液和乙液混合在一起，即成中性红-詹纳斯绿 B 混合染液，临用前配制。

（刘艳平 何莉芳）

