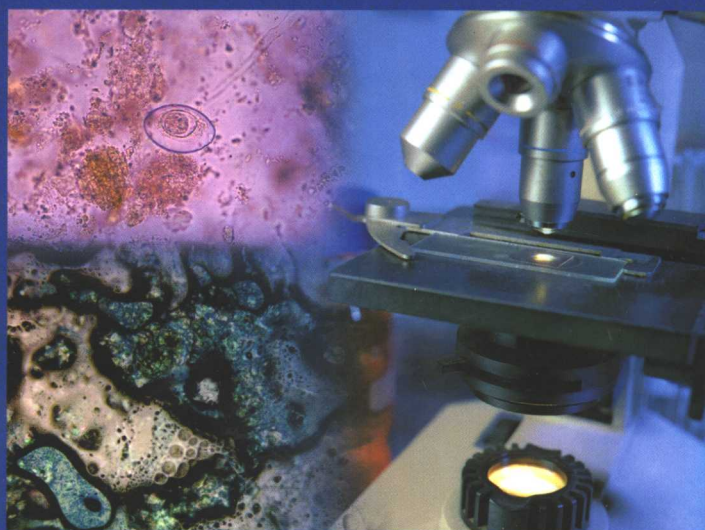


# 细胞生物学与细胞工程

## • 实验教程 •

朱 宏 周同岩 程荣进 编著



东北林业大学出版社

哈尔滨师范大学重点教材立项基金资助项目

# 细胞生物学与细胞工程 实验教程

朱 宏 周同岩 程荣进 编著

东北林业大学出版社

---

**图书在版编目 (CIP) 数据**

细胞生物学与细胞工程实验教程/朱宏, 周同岩, 程荣进编著. —哈尔滨:  
东北林业大学出版社, 2006.9

ISBN 7-81076-942-1

I. 细… II. ①朱… ②周… ③程… III. ①细胞生物学—实验—教材  
②细胞工程—实验—教材 IV. ①Q2-33②Q813-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 118865 号

---

责任编辑: 付 佳

封面设计: 彭 宇



NEFUP

**细胞生物学与细胞工程实验教程**

Xibao Shengwuxue Yu Xibao Gongcheng Shiyuan Jiaocheng

朱 宏 周同岩 程荣进 编著

东北林业大学出版社出版发行

(哈尔滨市和兴路 26 号)

黑龙江省教育厅印刷厂印装

开本 787×960 1/16 印张 16.5 字数 286 千字

2006 年 9 月第 1 版 2006 年 9 月第 1 次印刷

印数 1—1 000 册

ISBN 7-81076-942-1

Q·133 定价: 25.00 元

# 前 言

细胞生物学与细胞工程是哈尔滨师范大学生物系的生物教育与生物技术两个专业教学中的主干课程。结合师范院校细胞生物学与细胞工程理论教学内容,在多年实验教学经验基础上,综合本实验室的条件,并且广泛吸取国内出版同类优秀教材的经验与精华,编写了这本实验指导用成。目的是为教学提供一部可操作性强、注重基本技能训练、内容较全较新的实验教材。

本教材内容分为两部分,一部分为细胞生物学实验,另一部分为细胞工程实验,共十四章内容,45个实验。每个实验由实验目的、实验用品、实验原理及方法、实验结果与分析、思考题等组成。本书内容特点:

1. 为使学生更好地了解细胞生物学与细胞工程实验的各项要求、实验报告撰写、仪器使用等内容,书中单独安排一章进行介绍,以便做好实验的前后各项工作。

2. 每一个实验后面都设有附录,目的是增加相关知识的介绍,扩大学生的知识面。

3. 尽量增加可操作性实验数量,注重实验中经验的介绍,使学生少走弯路。

4. 对于一些难度较大,对实验仪器要求较高的实验我们也列入教材,采用参观讲解,购买教学光盘播放的方式教学,增强实验教学的直观性、先进性。

5. 实验中为培养学生的探索性、创新性,调动学生的思维能力,在相应实验后的思考题中增加实验设计的问题。

本书第一章至第三章内容由朱宏、程荣进编写,其余各章节由朱宏、周同岩编写。由于编者业务水平有限及时间仓促,教材中会有一些缺点与错误,希望各位同仁给予批评与指正,我们将不胜感激。

另外本教材出版受到哈尔滨师范大学博士启动基金与哈尔滨师范大学重点教材基金的资助,特此表示感谢。在教材编写过程中承蒙哈尔滨师范大学生物系申家恒教授提出了许多宝贵意见,在此对他表示衷心的感谢。

编 者

2006年8月

## 目 录

第一章 绪 论 .....	( 1 )
第一节 细胞生物学与细胞工程实验目的与要求 .....	( 1 )
第二节 细胞生物学实验操作中基本实验技术 .....	( 4 )
第三节 细胞工程实验中的基本实验技术 .....	( 16 )
第二章 光学显微镜技术 .....	( 24 )
实验一 普通光学显微镜的结构和使用 .....	( 24 )
实验二 特殊显微镜的原理和应用 .....	( 32 )
实验三 光学显微标本石蜡切片的技术 .....	( 45 )
第三章 电子显微镜技术 .....	( 52 )
实验四 透射电子显微镜 .....	( 53 )
实验五 透射电子显微镜样品制备 .....	( 56 )
实验六 扫描电子显微镜 .....	( 62 )
实验七 扫描电子显微镜样品制备 .....	( 65 )
第四章 光镜下细胞及细胞器的观察 .....	( 69 )
实验八 细胞形态结构观察与细胞大小显微测量 .....	( 69 )
实验九 线粒体和液泡的活体染色与观察 .....	( 74 )
实验十 质体的徒手切片观察、叶绿体的切片荧光观察 .....	( 77 )
实验十一 细胞器的光镜切片观察 .....	( 79 )
实验十二 动植物细胞微丝束的光学显微镜观察 .....	( 85 )
实验十三 细胞膜的渗透性 .....	( 87 )
实验十四 黑藻细胞内胞质环流及其对细胞松弛素 B 的反应 .....	( 90 )
第五章 细胞化学 .....	( 92 )
实验十五 核酸细胞化学 .....	( 92 )
实验十六 糖及多糖类的细胞化学 .....	( 98 )
实验十七 细胞中碱性蛋白质与总体蛋白质的定位 .....	( 101 )
实验十八 脂类的细胞化学 .....	( 103 )
实验十九 细胞中过氧化物酶类鉴定 .....	( 105 )
实验二十 酸性磷酸酶的细胞化学 .....	( 106 )
第六章 细胞器、生物大分子分离技术 .....	( 108 )
实验二十一 菠菜叶片叶绿体分离与荧光观察 .....	( 108 )

实验二十二	小麦黄化苗线粒体的分离与观察	(111)
实验二十三	动物细胞中细胞核与线粒体的分级分离	(113)
实验二十四	小麦叶片可溶性蛋白质的分离	(115)
实验二十五	小麦叶片蛋白质 SDS - PAGE 凝胶电泳	(117)
实验二十六	小麦基因组总 DNA 的提取	(121)
<b>第七章</b>	<b>细胞分裂</b>	(124)
实验二十七	蛙血涂片的无丝分裂观察	(124)
实验二十八	细胞有丝分裂过程的观察	(125)
实验二十九	细胞减数分裂压片标本制备与观察	(129)
<b>第八章</b>	<b>染色体标本制备技术</b>	(137)
实验三十	植物染色体标本制备技术	(137)
实验三十一	简易骨髓法快速制备动物染色体标本	(143)
<b>第九章</b>	<b>原位杂交技术</b>	(147)
实验三十二	植物染色体荧光原位杂交技术	(151)
<b>第十章</b>	<b>细胞凋亡</b>	(155)
实验三十三	细胞凋亡形态学检测方法	(162)
<b>第十一章</b>	<b>动物细胞培养与观察</b>	(165)
实验三十四	细胞培养的准备工作的	(166)
实验三十五	动物细胞的原代培养	(178)
实验三十六	培养细胞计数及活力测定	(183)
实验三十七	动物细胞的传代培养	(187)
实验三十八	鸡红细胞的低温冷冻保存与复苏	(190)
<b>第十二章</b>	<b>植物组织培养</b>	(195)
实验三十九	植物组织培养	(195)
实验四十	植物细胞的悬浮培养	(200)
实验四十一	植物原生质体的分离与培养	(204)
<b>第十三章</b>	<b>细胞融合技术</b>	(208)
第一节	细胞融合的概念与意义	(208)
第二节	细胞融合技术的建立与发展	(209)
实验四十二	鸡血细胞的体外融合	(210)
实验四十三	聚乙二醇方法诱导植物原生质体融合	(214)
实验四十四	细胞电融合方法	(216)
实验四十五	淋巴细胞杂交瘤技术	(220)

<b>第十四章 转基因动物技术</b> .....	(230)
第一节 转基因动物的原理和方法.....	(231)
第二节 基因显微注射法所需仪器试剂.....	(234)
第三节 实验动物的规格和准备.....	(237)
第四节 显微注射操作方法.....	(239)
第五节 转基因动物的检测方法.....	(245)
<b>参考文献</b> .....	(254)

# 第一章 绪论

## 第一节 细胞生物学与细胞工程实验目的与要求

细胞生物学与细胞工程是一门实验性学科，它们的发展和每一项理论与模型的建立都借助于大量的实验，并获得了大量实验的支持。因此，细胞生物学与细胞工程实验是整个细胞生物学教学与细胞工程教学的重要组成部分。

### 一、实验课的目的

通过实验使学生初步掌握细胞生物学与细胞工程实验的基本操作技术，了解获得细胞生物学与细胞工程学知识的科学方法，以及验证和巩固基本理论和方法。在实验过程中培养学生对科学工作的严肃态度，严格的要求，严密的工作方法和实事求是的工作作风。通过实验逐步培养学生能够客观地对事物进行观察、比较、分析和综合的能力以及独立思考的能力。

### 二、实验室守则

(1) 实验课是理论联系实际，验证和巩固课堂教学所获得的理论知识，进行基本技能技巧的训练，培养独立工作能力的重要教学过程。因此，必须严肃认真地上好实验课。在实验过程中要独立思考，积极主动，仔细观察，认真做好记录。

(2) 重视预习，实验课前必须全面系统地复习课堂教学内容，并仔细、认真阅读实验指导，明确实验目的、要求、内容和操作方法，并写出预习报告。

(3) 实验时要按要求进行，操作要准确，认真；观察要精细，实验报告要实事求是地填写，报告要简明扼要，方法要正确，绘图要真实、清晰、美观，严禁凭空造图或照书抄袭。

(4) 实验完毕后，必须把实验报告交给指导教师审阅。对错误之处应及时加以改正或补充。实验报告不合格者或未做实验者，必须补做实验，并补交实验报告。



(5) 实验室的一切设备仪器、药品、实验材料等,不得随意带出室外,本实验台上的物品不得串置他处。室内应保持清洁、肃静,不得高声谈话。

(6) 爱护国家财产,对室内仪器在使用前要认真检查,使用时要严格遵守操作规程,使用后要复原,保持清洁,并注意各种试剂对仪器的腐蚀影响。如在使用过程中有损坏者,必须立即报告指导教师并申明理由,请教师提出意见,按学校规定酌情处理。

(7) 试验完毕后,必须将实验台、仪器设备清理干净,把用过的物品放回原处,值日生要认真搞好室内卫生,经教师允许方可离开。

### 三、学生应备物品

- (1) 实验服、实验指导用书、预习报告。
- (2) 实验中需要的解剖工具、实验报告纸。
- (3) 绘图用具:3~5H 绘图铅笔、软橡皮、铅笔刀等。

### 四、实验过程

#### (一) 实验前

(1) 仔细阅读实验指导,了解实验的目的、要求、原理、实验步骤和仪器的使用。

(2) 结合实验内容,复习有关理论,做到充分理解。

(3) 在实验预习本上写出预习报告。

#### (二) 实验进行程序

(1) 讲解。教师对这次实验内容的安排、原理、注意事项进行讲解,让学生对该实验有充分的了解。

(2) 按照实验步骤,以严肃认真的态度进行操作,不得进行与实验无关的活动,如打闹、闲聊等。注意保护实验使用的仪器与玻片标本,节省实验药品。

(3) 仔细、耐心地观察实验过程中出现的现象;要随时记录并联系讲授内容进行思考,如①观察到了什么现象?②为什么出现这种现象?③此现象意义何在?

(4) 对于一些难度较大或不具备条件让学生动手操作的实验,安排观看相应录像或进行示教,扩大实验的内容让学生获得更多感性知识。

#### (三) 实验后

(1) 将实验用具整理就绪,对用品擦洗干净。如有损坏短少,应立即报

告负责教师。临时借用的器械或物品，实验完毕后，清点后交予负责教师。

(2) 整理实验记录，给出实验结果。

(3) 撰写实验报告，按时交给负责教师评阅。

(四) 实验报告的要求

书写实验报告是实验课的基本训练之一，学生都应认真对待，以便为日后撰写科研论文打下良好的基础。实验报告要注意科学性和逻辑性，文字要简练、整洁，杜绝互相抄袭现象。为了帮助学生写好实验报告，现将实验报告的格式和内容要求简述如下。

#### 1. 实验报告的格式

姓名：      专业：      组别：      日期：      室温

实验题目：

目的要求：

实验方法：

实验结果：

分析讨论：

思考题：

#### 2. 实验报告要求

(1) 实验题目：实验题目应与实验报告的内容一致。一次实验课可能完成多个实验，要求一个实验写一份报告。

(2) 目的要求：参考教材。

(3) 实验方法：验证性质实验可以简写，而学生自行设计的实验必须详细写明实验方法。

(4) 实验结果：实验结果是实验报告的重要部分，实验过程中所观察或记录的现象、数据，都应如实、正确地在实验结果中记述或说明，也可以采用文字叙述、绘图、制表等方法。

(5) 分析讨论：分析讨论是根据所学的理论知识，对实验结果进行科学的分析和解释，并判断实验结果是否与理论相符合。如果出现矛盾，应分析其中的原因。讨论是实验报告的核心部分，必须独立完成。对实验结果进行认真的分析讨论，有助于提高学生分析、思考和文字表达能力。提倡学生根据实验结果提出自己的见解与认识，以及需深入探索的问题。

(6) 思考题：是对本实验基本概念、基本原理、实验结果的简要总结。文字应突出重点、简明扼要。

## 第二节 细胞生物学实验操作中基本实验技术

### 一、光镜观察的玻片标本的制作技术

#### (一) 徒手切片

徒手切片方法是细胞生物学实验中观察细胞的形态与内部构造的常用及基本方法，徒手切片的一般过程如下：

(1) 材料与夹持物：一般选用软硬适度的植物根、茎或叶等，材料不宜太硬或太软。切较软的材料时，可用马铃薯、胡萝卜根或肥皂等为夹持物协助，一起进行切片。有些叶片亦可卷成筒状再进行切片。所选材料应先截成适当的段块，并削平切面，便于手持并进行切片。

(2) 切片前，在小培养皿中盛以清水，准备好毛笔、滴管和刀片等用具和待切的材料。

(3) 切片时用左手的三个指头拿住材料，并使材料稍突出于手指，以免刀口损伤手指。右手持双面刀片，把刀刃放已经削平的面上，轻轻压住它，刀口向内，且与材料断面平行，然后以均匀的力量和平稳的动作，自左外前方向右内后方（向着自己）滑行切片，注意要用整个手臂向后拉（手腕不必用力）。切片时动作要迅速，材料要一次切下（整个过程中应用清水湿润材料和刀面，使之润滑，否则材料容易破损）。如此连续动作，切下许多薄片后，就用湿毛笔将这些薄片轻轻移入已盛水的培养皿中备用。徒手切片时最重要的是切下一小片平而薄的组织，而并不要求切下一个完整的切片。

(4) 用毛笔挑选最薄而透明的切片，取出放在载玻片上，制成临时装片观察；如标本有保留价值，则可再进行脱水处理，制成永久标本。

#### (二) 石蜡切片法

以石蜡作包埋剂，用旋（回）转切片机切成薄片，经一系列处理制成永久制片。用以观察植物、动物细胞结构。见第二章的光学显微标本石蜡切片技术。

#### (三) 涂片方法

涂片方法即用涂布的方法制成玻片标本，在细胞生物学实验中经常用到的涂片材料有人血及动物血液、精巢、花药等。

人血涂片的制作方法：

(1) 载玻片的清洁：涂片时载玻片必须非常清洁，否则材料涂上后容易滑落下来。

(2) 采血与涂片：用 75% 的酒精制成酒精棉，用这样的酒精棉对左手的无名指进行表面消毒，待酒精挥发后用一次性采血针刺破指尖，用右手挤压伤口的两旁，挤出血来，用载玻片与血液接触取血。另外取一载玻片与前一玻片上的血滴接触，使两玻片成  $30^{\circ} \sim 45^{\circ}$  角，血滴就沿玻片边缘散开在两载玻片的接触面上，迅速由右向左推动载玻片，使血在另一载玻片上形成血膜。血要涂得快、涂得薄。

(3) 染色：待血干燥后，在血涂片上滴加适量的瑞氏染液，染色液要盖在全部涂面上。

(4) 冲洗：染色 3 ~ 5 min 后用清水冲洗，干燥后镜检。

(5) 封片：如果要长期保存，在涂面上滴加一滴加拿大树胶，盖上盖玻片，封藏。

花粉涂片的制作：

(1) 材料：采集新鲜花的花药或已经固定保存的花药。

(2) 涂片：取出一个花药放于清洁的载玻片上，加一滴染色液，用镊子或刀片截断花药，用镊子轻轻挤压花药，使花粉母细胞从切口溢出并涂成一薄层（注意：用镊子把花药壁残渣清除干净）。

(3) 封片：加盖片后，再在盖片四周稍加染色液，在酒精灯上微烤。

(4) 观察。

(四) 压片方法

一些较幼嫩、柔软的材料如根尖、花药等，可将其置于载玻片上，用小解剖刀将其分散，加染料一滴，再盖上盖玻片，用拇指垂直用力挤压，使组织散成一薄片，再进行观察的方法。压片法是细胞生物学中进行有丝分裂与减数分裂观察常用的方法。以观察有丝分裂中期染色体压片法为例介绍一般过程。

(1) 取材：植物材料中的顶端分生组织（根尖、茎尖）、居间分生组织、胚乳都可作为观察材料。实验多数采用种子萌发的根尖，以生长至 1 ~ 2 cm 长取材比较合适。

(2) 预处理：对中期染色体进行计数与观察，一般需要用化学或物理的方法对材料进行预先处理，目的是阻止纺锤体的形成。这并不妨碍分裂前期的进行，可以使分裂被停止于中期阶段。同时预处理可以使染色体收缩、变短，中期染色体易分散。预处理药物有秋水仙素、对二氟苯、8-羟基喹啉等。

(3) 固定：利用化学药物把细胞迅速杀死，使蛋白质变性与沉淀，并尽量保持各种结构的原有状态。常有固定液为卡诺固定液。

(4) 解离：解离的目的是使分生组织细胞间的果胶质分解，细胞壁软化或部分分解，使细胞和染色体容易分散压平，解离方法有酸解法和酶解法。酸解法是用盐酸水解根尖，步骤简便、容易掌握，广泛应用于染色体计数、核型分析和染色体畸变的观察。根尖分生组织经过酸解和压片后，都呈单细胞，但是大部分分裂细胞的染色体还包在细胞壁中间。酶解法常用于染色体显带技术或姊妹染色单体交换等项研究，通过解离和压片，使分生细胞的原生质体能够从细胞壁里压出，再经过精心的压片，使染色体周围不带有细胞质或仅有少量细胞质，易于进行观察。

(5) 染色：取根尖置于载玻片上，用镊子或刀片切除根冠和伸长区部分，只留 2~3 mm 的分生区。加一滴染液，用镊子将材料分割成若干小块，加盖片。

(6) 压片：在盖片的一角压一硬纸片，并用左手食指压紧，避免盖片错动。右手持解剖针并用针尖轻轻敲击盖片，使材料均匀分散。对于具有大染色体的材料（小麦、洋葱等）可在轻轻敲击盖片后，以手指紧压而使染色体分散，如重敲容易使染色体从着丝粒处断裂。对于染色体较小的材料（如水稻、谷子、棉花）可在轻轻敲击盖片后，用解剖针木柄端重敲盖片，使染色体分散和压平，重敲也不会引起这类染色体断裂。

(7) 镜检和永久封片。

#### (五) 铺片法

铺片法主要用于动、植物组织的表皮层观察。可活体取待观察的动、植物组织，用尖头镊撕去一小块表皮，迅速平铺在载玻片的水滴上（也可用染剂），用盖玻片盖上，避免气泡，除去多余水分，可做成临时或永久装片，进行观察。

口腔上皮细胞临时装片的制作方法及其注意事项：

(1) 用纱布擦净载玻片，放在平台上，滴一滴生理盐水溶液于载玻片中央。注意盐水量要适中。

(2) 用消毒牙签的钝端，在漱净的口腔任意一侧的颊部轻轻刮几下，把牙签上附有口腔壁碎屑的一端，放在载玻片上的盐水溶液中涂几下，盖上盖玻片。注意在放盖片时，先使盖片的一边接触水滴边缘，待盐水完全接触该边缘后，再轻而缓慢地放下盖玻片，这样可以避免产生气泡。

(3) 在盖玻片的一侧加染液 1~2 滴（任一染液均可），用滤纸从盖玻片的另一侧吸引染液，使染液浸润到标本的全部。

(4) 用低倍镜可观察到边缘不规则的扁平细胞，这就是人的口腔上皮细胞。在观察中能看到染色较深的细胞核，以及染色较浅的细胞质。

### (六) 悬滴法

悬滴法是指将培养在溶液里的活材料（如运动的变形虫、草履虫、棘尾虫、萌发的花粉、培养动物细胞）封闭在载玻片的小室里，观察它们活动的一种玻片标本。

培养液的配制：天然培养液，植物可使用植物体本身压榨的汁液，动物可使用该动物体的体液；人工培养液，植物可用 10% ~ 20% 的蔗糖溶液培养；动物中的草履虫、棘尾虫可用牛奶液培养。

步骤：

- (1) 取洁净的带凹槽的载玻片备用。
- (2) 取一洁净的盖玻片，在其中间加一滴培养液，把材料放在培养液中，制成悬滴。
- (3) 沿盖玻片边缘涂少许凡士林，将有培养液的一面向下，盖在载玻片的培养小室上。
- (4) 观察。

## 二、玻片标本的染色技术

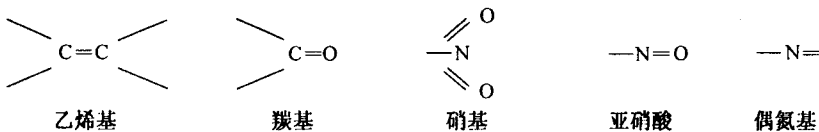
### (一) 染色的目的

在细胞生物学与细胞工程实验中经常用到各种染料。染色是将染料配成溶液，将组织浸入染色剂中，使组织或细胞的某一部分染上与其他部分不同的颜色，产生不同的折射率，使组织或细胞内各部分的构造显示得更清楚，便于利用光学显微镜进行观察。

### (二) 染料的性质

在组织切片染色中使用得最广泛的染色剂是有机染色剂。它结构复杂，种类繁多，但却都具备两个性质：一是要具有颜色，二是要与被染组织间有亲和力。这两个性质都是由分子结构决定的，主要由两种特殊的基团所产生，即产生颜色的发色团和产生亲和力的助色团。

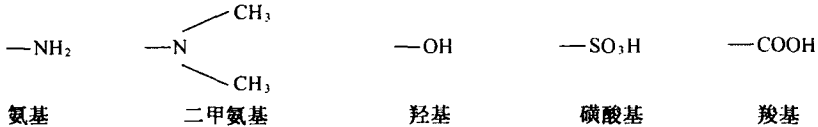
发色团：能使染色剂分子产生颜色的原子团称为发色团，也就是能吸收一定波长的光线并因此而呈现颜色的化学结构。发色团有下列几种：



同一化合物中所含的发色团愈多，则颜色愈深。含有发色团的芳香化合

物称为色原。色原虽然有色，但仍不是染料，因为它对组织没有亲和力，虽暂时会被染色，但经物理作用后又被除去，所以染料除有发色团外，还需要有助色团。

能使染色剂对组织产生亲和力的原子团称为助色团。它不是产生色彩的原因，它的作用是使化合物具有盐类的性质，即它使不能染色的有色物质变为一种电解质，使它能够与酸或碱生成盐类。助色团主要有以下几种：



合成染料是一种芳香族化合物，在其分子结构上具有发色团和助色团。颜色由发色团所致，染色性能和助色团有关。由此，我们可以进一步理解酸性染色剂和碱性染色剂的性质和它的真正含义。

染色剂的助色团是使其成为盐类的部分。助色团的性质决定了染料是酸性还是碱性，也可根据电离时染料所带电荷来判断酸碱性。所谓酸性染色剂是一种色酸的盐，它含有酸性助色团，在水电离后发色团带负电荷。所谓碱性染色剂是一种色碱的盐，它含有碱性助色团，在水中电离后发色团带正电荷。

### (三) 染色剂的分类

#### (1) 根据染色剂来源分：

①天然染料：由动植物体中提取出来的，如苏木精、洋红、地衣红等。天然染料虽然种类不多，但在生物染色中普遍使用。

②人工合成染料：用化学方法合成的芳香环或具芳香环的杂环化合物。

#### (2) 根据染料的化学反应分：

①碱性染料：一种色碱的盐，通常为氯化物、磷酸盐或醋酸盐，含有碱性助色团氨基或二甲氨基，主要有色部分是阳离子。主要有苏木精、番红、碱性品红等。

②酸性染料：一种色酸的盐，通常为钠盐、钾盐或铵盐，它含有酸性助色团羟基和羧基，主要有色部分为阴离子，如伊红、固绿、酸性品红等。

③中性染料：也称复合染色剂，它们的阴离子和阳离子都有颜色，如中性红等。

#### (3) 根据染色性能分：

①核染料：能与细胞核中的染色质发生作用的染料，包括天然染料苏木精、胭脂红以及人工合成的番红、结晶紫、甲苯胺蓝、甲基绿、美蓝、孔雀

绿等。

②细胞质染料：能与细胞质发生作用的染料，如伊红 Y、固绿、橘红 G、水溶性苯胺盐等。

③脂肪染色剂：人工合成的苏丹Ⅲ、苏丹 IV、苏丹黑及油红 O 等。脂肪类染色剂极性弱，难溶于极性溶剂水、醇中，不能作为普通染色剂用。但它能溶于脂肪，色彩鲜艳，通过物理作用可使脂肪着色。

④细胞壁染料：能与细胞壁发生作用的染料，如番红。

⑤荧光染料：应用含有荧光色团的物质作为染料，使之与细胞中和该物质有亲和力的物质结合。可在紫外线或短光波的照射下被激发出荧光，把这类染料称为荧光染料。如吖啶橙、水溶性苯胺蓝、H33258 等。

⑥活体染料：可用作细胞活体染色的染料，如中性红、詹纳斯绿 B。

#### (四) 染色的基本原理

有关染色的理论至今仍是尚未完全搞清楚的问题。目前一般还是从物理和化学的作用来解释各种组织或细胞的染色现象。

染色的物理作用：此理论认为，组织细胞的染色是以物理作用为基础的，主要依靠下列三种物理作用中的一种或全部，使染色剂进入组织或细胞内。

(1) 毛细管作用或渗透作用：组织细胞有许多小孔，因此，染料可借毛细管作用或渗透作用而进入组织细胞内。

(2) 吸收作用：又称溶解学说。该学说认为组织细胞之所以能被染色，主要是吸收作用所致。组织吸收染料后进行牢固的结合。组织的着色与溶液的颜色相同，但不一定和干燥染料的颜色相同。例如，品红溶液为红色，所染组织为红色，而干燥的品红为绿色。

(3) 吸附作用：吸附作用是固体物质的特性，细胞中各种蛋白质或胶体有不同的吸附面，因此，能选择吸附不同的离子，即某种蛋白质对某种染色剂有吸附作用，而对别的染色剂无吸附作用，这就可以解释鉴别染色现象了。

染色的化学作用：化学作用的主要理论根据是染色剂的性质可分为酸性、碱性和中性，而动、植物的细胞内一般也可分为酸性（阴离子）和碱性（阳离子）部分。碱性染色剂溶液中的有色部分为阳离子，能与细胞的阴离子（酸性部分）较牢固地结合；酸性染色剂溶液中的有色部分为阴离子，能与细胞内的阳离子（碱性部分）较牢固地结合。例如，细胞核尤其是核内的染色质，主要由核酸组成，是酸性部分，故和碱性染料（如苏木精）的亲合力很强，易于着色。细胞质含碱性物质，故和酸性染色剂（如伊红）的亲



力很强，易于着色。所以在伊红—苏木精（简称 HE）染色中，细胞核被碱性染色剂苏木精染色，细胞质被酸性染色剂伊红所染，也就是说细胞核是嗜碱性的，细胞质是嗜酸性的。需注意的是，嗜酸性和嗜碱性是相对而不是绝对的。

由此可见，细胞各成分染色的强弱是与细胞成分及染色剂的性质有密切关系的，两者之间的亲和力强，染色就深；亲和力弱或无，染色也浅或无。此外染色的化学学说认为蛋白质是两性物质，即它在酸性溶液中呈碱性，带正电荷，能与带负电荷的离子化合；它在碱性溶液中呈酸性，带负电荷，能与带正电荷的离子化合。故染液中的 pH 值高于组织溶液的等电点时，则组织溶液显酸性，故与碱性染色剂反应；反之，pH 值低于组织溶液的等电点时，则与酸性染色剂反应；在近乎中性的染液中，细胞核内的染色质与碱性染色剂反应，胞浆与酸性染色剂反应化合。根据这个假定，凡是染色溶液的  $H^+$  浓度在组织溶液的等电点以下的，就会被碱性染色剂染色；在它的等电点以上时，就会被酸性染色剂染色。

生物组织染色是个复杂的过程。目前认为，它既是一个化学过程又是一个物理过程，它是二者综合作用的结果。

#### （五）媒染剂及促染剂

（1）媒染剂：参与染料与组织反应，促进染色能力和生成金属离子的盐称为媒染剂。媒染剂的种类很多，一般是一种二价或三价金属盐或氢氧化物，常用的是铝盐、铁盐及明矾。例如，铁矾作洋红的媒染剂。

（2）促染剂：它能使染料对组织着色容易，而本身不参与染色反应。常用的有硼砂、石炭酸。例如，洋红中加硼砂。

（3）分色剂：用来脱掉组织或切片过度染色的染料而使用的试剂。有如下三种：

酸性分色剂：多用醋酸或盐酸，浓度一般为 0.1% ~ 1% 的盐酸水溶液或 70% 的酒精。

媒染分色剂：铁矾苏木精染色法中使用的铁矾即媒染分色剂，在染色前使用起媒染作用，而染色后使用起分色作用。

氧化分色剂：如苦味酸等能将切片上所有的染色无选择地脱掉，但由于不同的组织对染料的亲和力不同，这样结合不牢的染料会脱掉，而保留一部分颜色。

#### （六）一般的染色方法

（1）按染色时材料是否完整分：

①整体染色法：一般微小的生物体经固定、冲洗后，其整体直接投入染