

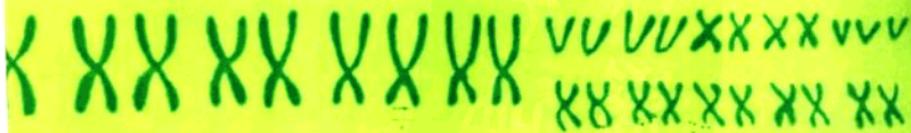
高等医学院校教材

# 细胞生物学与医学遗传学实验

张爱菊 陶淑玲

主编

陈兰英 张雅琴



天津人民出版社

主 编：张爱菊 陶淑玲 陈兰英 张雅琴

副主编：周长文 张宝勤 曹 虹 王学芳

赵则祥

编 委：（以姓氏笔划为序）

王学芳 刘汝云 陈兰英 周长文

张爱菊 张宝勤 张瑞雪 张雅琴

赵 晓 赵则祥 骆 延 贾洪敏

陶淑玲 曹 虹 曹瑞云

主 审：张宝勤 赵汝良

## 前　　言

随着医学教育的发展和医疗保健事业的进步，国内大多数医学院校为医学生开设了细胞生物学和医学遗传学课程，这对于医学生知识结构的完善起到了良好的作用。因为近十几年来，细胞生物学发展非常迅速，取得了许多引人注目的成果，其中许多新理论、新概念被广泛应用于医学。医学遗传学也是同样，曾经严重危及人类健康的烈性传染病和营养不良疾病已得到了有效的控制，其发病率逐渐下降，而遗传性疾病发病率则相对上升，为了适应人类疾病谱的这种变化，对医学遗传学知识的学习，更是医学生的当务之急。近几年来，国内先后出版了几本细胞生物学与医学遗传学的理论教材，为学科的教材建设奠定了基础，然而，细胞生物学与医学遗传学是实践性很强的学科，实验课在教学中是一个非常重要的组成部分，学生基本技能、动手能力的培养都要通过实验课来实现。众所周知，实验教材是开好实验课的必备条件之一。而目前国内还没有一本正式出版的适合医学专科学校使用的细胞生物学与医学遗传学实验教材。为加强本学科的实验课教学，提高教学质量，根据医专的特点和教学的需要，我们几所医学高等专科学校联合编写了《细胞生物学与医学遗传学实验》这本教材。

本书编入了 6 个常用的细胞生物学实验和 15 个医学遗传学实验，在内容的选择上既有较经典的基础项目，又有反映现代水平的实验。为了学生学习的方便，我们在书中还编入了较为丰富的附录。在编写过程中，我们注意了科学性和

实用性，在操作步骤的叙述上力求详尽，以方便学生能独立地完成某些实验项目。鉴于各学校在教学时数和实验条件上不尽相同，使用时可根据各自的条件，选择实施书中的实验项目。

在本书的编写过程中，得到了作者所在学校各级领导和国内同行的关心、支持与鼓励，在此表示衷心感谢。由于我们水平所限，加之时间仓促，书中如有错误和不妥之处，恳请师生批评指正。

### 编著者

1995年8月

# 目 录

细胞生物学与医学遗传学实验须知	1
实验一 显微镜的结构和使用方法	4
实验二 动植物细胞的结构	18
实验三 细胞器的观察	23
实验四 细胞的吞噬活动	27
实验五 细胞的增殖	29
实验六 细胞培养	35
实验七 动物细胞减数分裂标本的制备与观察	46
实验八 人类正常遗传性状的调查	52
实验九 人类ABO血型的遗传与PTC尝味实验	54
实验十 遗传病系谱分析	59
实验十一 小白鼠骨髓细胞染色体标本制备及观察	63
实验十二 人外周血淋巴细胞培养、染色体标本的制备与观察	69
实验十三 人类染色体核型分析	78
实验十四 染色体G显带标本的制备与观察	81
实验十五 染色体C显带标本的制备技术	89
实验十六 人类异常核型的观察与分析	91
实验十七 姐妹染色单体互换标本的制备及观察	95
实验十八 性染色质标本的制备与观察	100
实验十九 人体皮肤纹理的观察	106
实验二十 染色体的显微摄影技术	114
实验二十一 人类遗传病的观察	126
附录：细胞生物学与医学遗传学强化教程	127

# 细胞生物学与医学遗传学实验须知

## 目的与要求

细胞生物学与医学遗传学实验课是医学生学习的一个重要组成部分，它的目的是通过实验、电视录相、讨论、练习等方式，巩固加强对理论知识的理解，培养学生根据客观实际分析问题和解决问题的能力。

- 一、验证、充实和提高课堂上所学的基本理论。
- 二、通过观察标本、动手做实验、绘图和写实验报告，训练基本操作技能。
- 三、培养联系实际、实事求是的科学态度和认真思考独立自学的能力。
- 四、养成遵守秩序、爱护公物、保持整洁的良好习惯。

## 实验室规则

- 一、必须携带齐全各项实验用品。
- 二、不得迟到和早退，不得无故缺课，必须在课前 5 分钟到实验室坐定。
- 三、按指定的组号及分配的标本、用品及试剂进行实验，不得自行更动和调换。
- 四、保持实验室内安静，不得高声谈笑喧哗和随意走动。
- 五、爱护实验用具，用后洗净擦干，归还原处，如有损

坏或丢失，应立即报告辅导教师并说明原因，加以登记，按学校规定处理。

六、每次的实验报告应在教师指导时间内完成。

七、每次实验完毕，必须将所用器材、药品加以整理，送回原处，动物要送至指定地点或动物园。

八、每次实验结束后，必须打扫卫生，拖地擦桌，倾倒垃圾，保持实验室整洁。并检查自来水龙头、电灯开关及门窗是否关好，然后方可离去。

## 如何做实验

一、每次实验前应把该次实验指导细心阅读一遍，特别是明确实验的目的、实验的内容和操作方法。

二、实验开始时应认真听教师的讲解。

三、严格根据实验指导进行操作。实验的主要目的之一在于培养学生的独立工作能力，因此，每个学生在实验中要做到尽量不依赖别人，只有当自己经过努力仍不明白时才请教师帮助。

四、每次实验最后10~20分钟应留作写笔记或总结用。

## 绘 图

一、绘制科学的图应以精确为主，因此，要求学生首先要认真观察标本。

二、只在纸的一面绘图，铅笔应经常保持尖锐，纸面力求整洁。

三、绘图大小应适宜，图的各部分结构必须按要求表示清楚。一般较大的图每页绘一个，同一类的小图可以在一张纸上绘数个，但应在纸上适当安排，预留注解的空地。

四、先用软铅笔(HB)把标准轮廓及主要部分轻轻画出，根据草图添绘各部分的详细结构，最后用尖的硬铅笔(2H或3H)以清晰的笔画绘出全图，点线不要重复描绘。

五、所有的图都要注释完全。

六、不要用钢笔或圆珠笔绘图。

## 实验报告

一、除绘图外实验报告还包括解答实验中的思考题和必要的记录等。

二、实验报告字距不宜太近，两行之间应留空隙，以便教师改正。

三、写实验报告时切记下列几点

1. 记载要简明、正确、突出重点。

2. 记载要条理分明。

3. 实验报告是记录个人在实验中观察到的内容和对观察的解释，不可抄袭实验指导和教材中的材料。

(张爱菊)

# 实验一 显微镜的结构和使用方法

## 目的与要求

1. 熟悉显微镜的主要结构和功能。
2. 初步掌握显微镜的使用方法。

## 材料与用品

普通光学显微镜、其他类型显微镜、“显微镜的使用”电视录像片。

文字装片、血涂片、二甲苯、香柏油、擦镜纸等。

## 内容与方法

光学显微镜是细胞生物学、医学教学、科研和临床工作中常用的仪器。光学显微镜的外形和结构因型号不同略有差异，但其基本结构和功能是相似的。

### 一、显微镜的基本构造及性能

显微镜的结构主要由机械部分、照明部分、光学部分三部分构成。

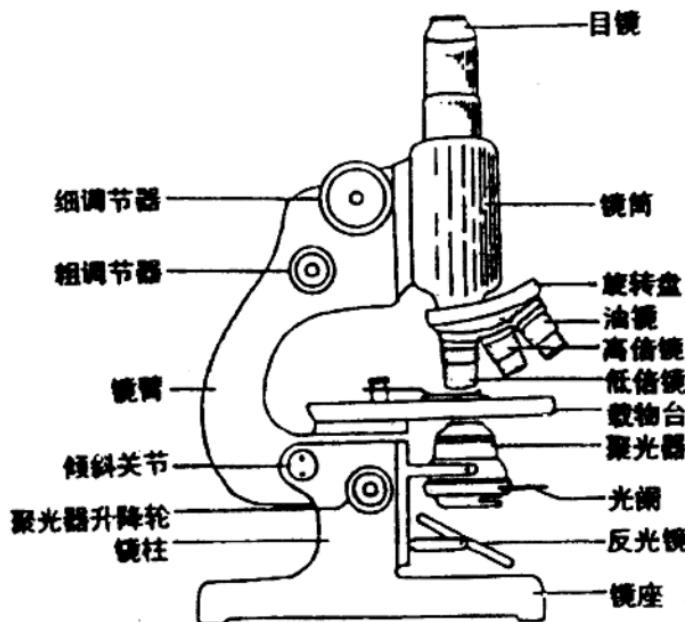


图1-1 复式光学显微镜（直立式）

### （一）机械部分

1. 镜座：是显微镜的基座，通常为马蹄形或方形，用以支持和稳定镜体。
2. 镜柱：是自镜座向上直立的短柱，与镜座和镜臂相连。

3. 镜臂：是镜柱上面的弯曲部分，支持镜筒和镜台，便于握拿。

4. 镜筒：是按装在镜臂前方的筒状部分，上端装有目镜，下端与旋转器相连。分单筒式和双筒式两类。单筒类又分直立式和倾斜式两种。双筒镜都是倾斜式的。

直立式的目镜和物镜的中心线（光轴）在同一直线上。在镜柱和镜臂相接处有一可动关节称为倾斜关节，使用时可使镜筒成一定角度的倾斜，以便观察，但倾斜角度不应超过45度，以免翻倒。

倾斜式显微镜镜筒本身已作倾斜位置，所以没有倾斜关节。倾斜式的目镜和物镜的中心线互成45度角，在镜筒的转折处装有棱镜，使光线转折45度。

双筒式的目镜与镜筒之间有一环状结构，称镜筒长度补偿环，转动此环可调节目镜焦距。

5. 调节器：位于镜臂上方或镜柱两侧有大小两种螺旋，为调节焦距之用。大螺旋为粗调节器，转动时可使镜筒或镜台以较快速度或较大距离升降，适于低倍镜使用；小螺旋为细调节器，转动时能使镜筒或镜台缓慢升降，适用于高倍镜、油镜或分辨物像的清晰和标本的不同层次。

有的显微镜其调节器在镜柱两侧，为大小重合的圆形螺旋，外轮粗大螺旋为粗调节器，内轮较小，为细调节器。右侧粗调节器内侧有一窄环，称粗调松紧调节轮，用以调节粗调节器的松紧度，向外转时偏紧，反之则偏松。左侧粗调节器内侧为一短柄环，称粗调限位环凸柄，当用粗调节器调焦看到物像时即可停止转动，然后向内推紧粗调限位环凸柄，粗调即已限位，镜台不能继续上升，但微调手轮仍能调节。

6. 旋转盘：又称物镜转换器。装在镜筒下端，是一个

. 6.

可以自由旋转的圆盘，上有2~4个圆孔（物镜孔），各种放大倍数的不同物镜就装在这些孔里，旋转此盘可以调换物镜。在圆盘的边缘，每一物镜位置的正上方都有缺刻，而圆盘基座的正前方又有一固定扣，当旋转物镜时一定要将该物镜上方的缺刻和基座上的固定扣相扣接，使物镜和光轴同心，否则无法观察标本。

7. 载物台：又称镜台，位于物镜下面，有方、圆两种形状，用以放置玻片标本。镜台中央有一通光孔，由反光镜反射而来的光线透过聚光镜经此孔射向标本。

8. 推动器：位于镜台的后方或侧面边缘。推动器上附有镰形的弹簧钩，用以夹持玻片标本。推动器的一侧有两个用以移动标本的螺旋，其中的一个是调节玻片标本作左右方向的移动，另一个使玻片标本作前后方向的移动。标本推动器上有刻度，是用来确定标本在视野中位置的标记。如果在第一次找到标本时记住横向及纵向两个刻度的读数，当以后再进行观察时，如使用同一架显微镜，就不需要重新寻找，只要将原来的玻片夹在标本推动器的弹簧钩中，然后调节推动器至第一次观察时的读数就行了。有些显微镜没有推动器，而是在载物台中央圆孔的两旁装有两片具有弹性的薄金属片，称为弹簧夹，用以稳定玻片标本，寻找物象时需用手移动玻片。

## （二）照明部分

1. 反光镜：位于镜柱前方的一个圆形平、凹两面镜，能转向各方，用以反射任何方向的光源入聚光器。镜的平凹两面也可以自由转换，凹面集光作用较强，通常在光线弱时使用，当光线强而均匀时则用平面镜。不过实验室内的光线常不甚均匀，所以常用凹面镜。

现在一些比较好的显微镜使用电源照明，而没有反光镜。

2. 聚光器：位于载物台通光孔下方，由一组透镜组成，可使反光镜反射而来的光线集中于标本上，以增加亮度。其左下方有一小螺旋，转动时可升降聚光器。上升时光线增强；下降时则光线减弱。

3. 光阑：又称光圈。装在聚光器的底部，内装有许多叠扇形的活动薄钢片，形似照相机的光圈。拨动圆环外侧的柄，能使光圈扩大或缩小，以调节光线的强弱。光圈大则光线强，适于观察深色的标本；色浅或透明的标本，则应缩小光圈观察。有些显微镜在光圈的下面还装有一个可以移动的金属环，这是滤光片框。当使用人工光源时，有时有必要在框中放置滤光片，以改善光线。用一般钨丝灯照明时，宜加蓝色滤光片；如用日光灯照明时，则无需加放滤光片。

### (三) 光学部分

1. 目镜：目镜是一个很短的圆筒状构造，两端镶有两片透镜，套在镜筒的上端。每架显微镜通常都配备二个到三个目镜，放大率各不相同，其上刻有 $6\times$ 、 $10\times$ 、 $15\times$ 等符号，以表示目镜的放大倍数。倍数越大，目镜长度越短，放大率越高，反之亦然。可以根据需要挑选使用，不过一般装在镜筒上的都是 $10\times$ 的目镜。教师做示教时，可在目镜的两片透镜之间加装一段头发或钢丝做成指示针，以指明观察目的物的部位。

2. 物镜：依放大倍数不同，分为低倍镜、高倍镜和油镜三种，通常装在旋转盘上二至三个物镜。每个物镜上刻有相应的标记。 $N\cdot A\cdot$  表示镜口率（或数值孔径）。如在10倍物镜上标有 $10/0.25$ 和 $160/0.17$ 。 $10$ 为物镜的放大倍数，即 $10\times$ ； $0.25$ 为镜口率（或 $N\cdot A\cdot 0.25$ ）； $160$ 为镜筒长度。

以mm为单位；0.17为所要求盖玻片的厚度，以mm为单位。一般 $40\times$ 的N·A·为0.65； $100\times$ 的N·A·为1.25等。

从外形上能区分几种物镜。低倍镜，镜身短细，镜面直径最大，其上刻有 $8\times$ 或 $10\times$ ；高倍镜，镜身较长而粗，其上刻有 $40\times$ 或 $45\times$ ，镜面直径较小；油镜，镜身最长，镜面直径最小，其上刻有 $90\times$ 或 $100\times$ 。各种物镜下端常以红、黄或白圈表示。

有的高倍镜和油镜上装有弹簧，能起缓冲作用，防止物镜与镜台或玻片相撞时造成损伤。放大倍数=目镜的放大倍数×物镜的放大倍数。如目镜为 $10\times$ ，物镜为 $40\times$ ，其放大倍数为 $10\times 40=400$ 倍。

## 二、显微镜的使用方法

### (一) 低倍镜的使用方法

1. 准备：打开镜箱，右手握镜臂，左手托镜座，轻轻放于实验台座位偏左侧，镜筒向前，坐着操作。转动粗调节器将镜筒略有升高，转动旋转盘使低倍镜对着载物台的镜台孔，这时应注意将低倍镜上方旋转盘边缘上的缺刻与旋转盘基座上的固定扣相接合，这时可以听到轻微扣碰的声音，或手上感到一种阻力，说明物镜的光轴已对准镜筒的中心。

2. 对光：打开光阑，上升聚光器，使与载物台平，用左眼在目镜上观察（要求练习两眼同时睁开），同时用手转动反光镜（一般用凹面镜）对着光源，直到镜内呈青白色亮光为止，这发亮的范围称为视野。

3. 装置玻片标本：将标本有盖玻片的一面向上置于载物台上，用弹簧夹夹住或用标本推动器上的弹簧钩扣住。然后转动推进器螺旋，使要观察的部分对准镜台孔的正中。

4. 调节物距：要清晰地反映标本的物象，镜头与标本

要保持一定的距离（简称物距），距离过远或过近都无法观察到标本的物象。调节物距是刚学使用显微镜时较难掌握的一个步骤。要求反复练习。

（1）先从物镜的侧面注视低倍镜的位置，一手转动粗调节器使低倍镜徐徐下降到距标本半厘米为止。注意绝对不可以一面在目镜中观察，一面下降镜筒，这样就有可能使镜头碰撞标本，造成损失。新式显微镜有时有保险扣板，使镜筒下降到一定程度就被止住，但不是每架显微镜都有这种装置，所以第一次使用时就要了解情况，如果没有这种装置则应特别加以注意。

（2）用左眼在目镜中注视视野，同时用左手向上慢慢逆转粗调节器，使镜筒逐渐上升，直至视野中出现清晰的物象为止。如果视野内物象稍有偏斜则可将标本略加移动。如光线强弱不适，则可开闭光阑和升降聚光器予以调节。

如果标本不在视野内，即使达到物距范围时，也看不到标本。这时可以注意视野是否出现花纹或颗粒，当发现这种情况时，可稍稍移动玻片，如视野中花纹或颗粒也跟着移动，这表示焦点已对准，不过是在玻片外面的盖玻片或玻片的表面上，这时只要稍稍移动玻片，使标本进入视野，然后再用细调节器略为调节即可。如果视野中出现上述花纹或颗粒，但是当移动玻片时，它们不跟着移动，这表示尚未调准物距，所见的花纹或颗粒是目镜或物镜镜面不清洁所致（微微转动目镜，如果发现它们随着转动，表明是目镜不清洁，否则就是物镜不洁净），一般尚要再略为升降才能看清标本。

## （二）高倍镜的使用方法

1. 依上述操作程序，先在低倍镜下找到物象，将要放大的部分移至视野中央。

2. 从侧面注视物镜，转动旋转盘，使高倍镜对准通光孔。

3. 用左眼从目镜上观察，慢慢上下转动细调节器（注意不要转动粗调节器，以免镜筒或镜台大幅度上升下降，使玻片与物镜相撞）。直到物像清晰为止。如按上述操作仍找不到物象时，可能有如下原因。

(1) 观察的目的物不在视野之内。可换回低倍镜，将目的物移至视野中央。

(2) 是否玻片放反了。应将有盖玻片面朝上，再按上述操作。

(3) 标本太小或太稀少，在高倍镜下难得寻找，应在低倍镜下找准后移置视野正中央，再转高倍镜观察。

(4) 标本色浅或透明，光太强时，应调节聚光器或光阑，减少进光。

当像清晰时，物镜镜面与标本间的距离称为工作距离。物镜放大倍数越高，工作距离越短，反之亦然。

根据物镜的工作距离，确定每个物镜的高度，不同倍数的物镜基本处于同一焦片上。因此低倍镜成像后直接转换高倍镜或油镜，都应看到物像，或用细调节器稍微调节即可，这称同高调焦。

但有的物镜不配套或质量差，低倍镜找到物像后，调换高倍镜往往转不过来或碰擦标本，此时不能硬转，可把镜筒略升高，直接用高倍镜调焦。

若用高倍镜观察仍不清晰，或放大倍数太小时，要用油镜观察。更换标本时，先移开物镜，再取出或放置标本。

### (三) 油镜的使用方法

1. 在使用油镜前必须先经过低倍镜检查，再转换到高

倍镜观察，然后再将欲放大的部分移到视野的正中位置。

2. 移升高倍镜，在观察标本的部位滴一滴香柏油，眼睛注视侧面，转换油镜，使油镜的下端镜面与玻片上的油滴接触。应特别注意镜头不能压在标本上，更不能用力过猛，否则不仅压碎镜片，也会损坏镜头。

3. 用左眼观察目镜，进一步调节光线使光线明亮，慢慢上下调动细调节器，直至视野出现清晰的物像为止。一般情况下，转过油镜即可成像，稍加细调即可使物像清晰。

4. 观察完毕，先上升镜头，把镜头转向旁边，用擦镜纸把镜头上的香柏油擦干净后，再用擦镜纸沾少许二甲苯轻擦，最后用干净的擦镜纸擦干净。

5. 有盖玻片的标本，同样用擦镜纸或沾少许二甲苯将盖片上的油擦干净。无盖片的标本（如血涂片）不能擦，以免损坏标本。临时制片因有水分，不能用油镜观察。

### 三、使用显微镜的注意事项

#### （一）操作时应注意的事项

1. 在装置玻片标本之前应特别注意将盖有盖玻片的一面朝上，切勿反放，如果反放虽然对低倍镜观察并无妨碍，但当转到高倍镜及油镜时，则不但找不到标本的物象而且会损坏物镜上的透镜及标本。

2. 刚开始使用显微镜的同学，初步学会在低倍镜及高倍镜下看到标本的物象以后，应该进一步学习调节光线（包括反光镜、光阑及聚光器的调节）使标本更为清晰。例如对光时应注意光阑开大，并将聚光器升到与载物台平。如用低倍镜观察没有染色的活体标本或染色较浅的切片标本时，则应该将光阑关小一点，这样可以使物象更为清晰，能够看到更多的构造。