



普通高等教育“十二五”规划教材

供基础、临床、口腔、护理、
预防、中西医、检验、法医、
麻醉及影像等专业使用

医学生物学与 医学细胞生物学 实验教程 (第2版)

李虹 梁素华 主编



科学出版社

普通高等教育“十一五”国家级规划教材配套教材
普通高等教育“十二五”规划教材

供基础、临床、口腔、护理、预防、中西医、检验、法医、麻醉及影像等专业使用

医学生物学与医学细胞生物学 实验教程

第2版

主 编 李 虹 梁素华



科学出版社

内 容 简 介

《医学生物学与医学细胞生物学实验教程》第2版一书是普通高等教育“十一五”国家级规划教材《医学生物学》第8版和《医学细胞生物学》第7版的配套教材。全书共有22个实验内容,其中既有巩固和强化基础知识、基本理论及基本技能训练的实验,也有部分着重培养学生能力的综合性、探索性及创新性实验。

本书可用于医学类各专业本科生的《医学生物学》和《医学细胞生物学》课程的实验教材,也可用于相关专业研究生的《医学细胞生物学》实验课程教材,还可作为从事相关领域研究的科技工作者的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

医学生物学与医学细胞生物学实验教程 / 李虹, 梁素华主编. —2版.
—北京: 科学出版社, 2014.6
普通高等教育“十一五”国家级规划教材配套教材
普通高等教育“十二五”规划教材
ISBN 978-7-03-041102-0

I. ①医… II. ①李… ②梁… III. ①医学-生物学-实验-高等学校-教材 ②医学-细胞生物学-实验-高等学校-教材 IV. ①R318-33 ②R329.2-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2014)第129700号

责任编辑:刘 畅 / 责任校对:郭瑞芝
责任印制:阎 磊 / 封面设计:迷底书装

科 学 出 版 社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京市文林印务有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2007年8月第 一 版 开本:720×1000 B5

2014年6月第 二 版 印张:9 1/2

2014年6月第一次印刷 字数:189 000

定价:25.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《医学生物学与医学细胞生物学实验教程》 编委会

主 编 李 虹 梁素华

副主编 许 勇 李学英 杨春蕾

编 委 （按编写顺序排列）

梁素华 宋桂芹 王 婉 杨俊宝 许 勇

李学英 路 健 牛 蓓 杨春蕾 申跃武

陈保锋 李 虹 陈 康 陶宏凯 章 欢

第二版前言

众所周知，医学生物学和医学细胞生物学均是实践性很强的学科，而且这两门课程联系非常紧密。为了加强实验课教学，培养学生的动手能力，提高学生的综合素质，我们邀请了几所兄弟院校中具有丰富实验教学经验的教师共同编写了本书，其与普通高等教育“十一五”国家级规划教材《医学生物学》第8版和《医学细胞生物学》第7版配套。

本书是在李虹主编的《医学生物学与医学细胞生物学实验指导》和梁素华主编的《医学生物学与细胞生物学实验》基础上修订而成。我们根据大部分院校开设的实验内容，精选了22个适合医学生物学和医学细胞生物学两门课程的实验。其中既有巩固和强化基础知识、基本理论及基本技能训练的实验，也有部分着重培养学生能力的综合性、探索性及创新性实验。鉴于各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需要选择书中的实验项目。

参加本书编写的单位有四川大学、成都中医药大学、川北医学院、遵义医学院、成都学院等院校。

本书出版得到了各编写单位的大力支持，同时也得到了科学出版社刘畅编辑的大力支持与帮助，在此表示诚挚的谢意。

虽然编者对本书的编写花费了不少时间和精力，但由于水平有限，不足之处在所难免。希望使用本书的老师和同学提出宝贵意见，以使本实验教程日臻完善。

李虹 梁素华

2014年4月

第一版前言

众所周知，医学生物学和医学细胞生物学是两门实践性很强的学科，并且这两门课程联系很紧密，尽管目前各地已有一些《医学生物学实验指导》与《医学细胞生物学实验指导》出版，但将这两门相关的课程并入一本教材，目前还没有。因此，考虑到与我们编写的普通高等教育“十一五”国家级规划教材《医学生物学》与《医学细胞生物学》配套使用，加强实验课教学，以满足广大医学院校学生的学习需求，我们几个院校联合编写了这本实验教材。

考虑到学生的经费及教材的使用率，本书精选了17个常用的与医学联系紧密的《医学生物学》与《医学细胞生物学》的实验，力求简明扼要，切实可行。鉴于各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书中的实验项目。

参加编写的同志有（按编写内容顺序）：河北北方学院的魏会平，成都医学院的潘克俭，重庆医科大学的陈俊霞、郭风劲、蒲淑萍，遵义医学院的李学英，四川大学生命科学学院的杨春蕾、李虹。

本实验指导一书的出版，得到了各编写单位的大力支持，还得到了四川大学华西医学中心杨扶华教授的悉心指导，同时也得到了科学出版社的大力支持与帮助，在此谨代表同仁表示诚挚的谢意。

由于我们水平有限，加之编写的时间仓促，书中的不足在所难免。希望同行以及使用本教材的老师和同学们提出宝贵意见，以使本实验指导日臻完善，更适合医学院校教学的相关需要。

李虹

四川大学生命科学学院

2007年4月

目 录

第二版前言

第一版前言

实验规则

实验一	光学显微镜的构造及使用方法	1
实验二	光学显微镜下的细胞形态结构观察	11
实验三	核酸成分的检测	18
实验四	细胞器及细胞骨架标本的制备与观察	22
实验五	小鼠腹腔巨噬细胞吞噬活动观察	28
实验六	细胞核的分离与鉴定	31
实验七	细胞有丝分裂标本的制备与观察	34
实验八	细胞减数分裂标本的制备与观察	39
实验九	小鼠骨髓细胞染色体标本的制备与观察	44
实验十	人外周血淋巴细胞染色体标本的制备与观察	48
实验十一	染色体 G 显带及 SCE 标本的制备与观察	53
实验十二	人体细胞染色体 G 显带核型分析	58
实验十三	动物细胞的原代培养	65
实验十四	培养细胞的传代及冻存复苏	72
实验十五	培养细胞的活力测定	79
实验十六	动物细胞融合	83
实验十七	染色体提前凝聚的诱导与观察	87
实验十八	流式细胞术	92

实验十九 细胞凋亡的诱导与检测.....	99
实验二十 人类性别鉴定及几种遗传性状的检查.....	107
实验二十一 人类遗传病家系分析.....	114
实验二十二 家兔解剖.....	119

实验一

光学显微镜的构造及使用方法

实验目的

1. 掌握光学显微镜的主要结构和功能。
2. 熟悉光学显微镜的正确使用方法。
3. 了解光学显微镜的维护方法。

实验用品

一、器材

普通光学显微镜、光学显微镜构造图、擦镜纸。

二、材料

家兔肌肉、肝脏或肾脏切片标本。

显微镜的类型

一、光学显微镜

(一) 普通光学显微镜

普通光学显微镜(ordinary light microscope, OLM)是应用最广泛的显微镜,放大倍数为1000~1500倍。常用于观察细胞的一般形态结构,可看到细胞核、核仁、细胞膜、线粒体、中心体、高尔基复合体及染色体等结构。

（二）倒置显微镜

倒置显微镜（inverted microscope）的物镜位于标本下方，光源位于标本上方。该种显微镜主要用于观察培养细胞等活体标本。

（三）暗视野显微镜

暗视野显微镜（dark field microscope）的特点是使用中央遮光板或暗视野集光器，使光线通过集光器透镜边缘，倾斜地照射在标本上，经标本的反射或散射后再射入物镜内，因此整个视野是暗的，所观察到的是被检物体的衍射光图像。暗视野显微镜一般用于观察微小生物的运动、活细胞的结构及细胞内微粒的运动等。

（四）荧光显微镜

荧光显微镜（fluorescence microscope）是在普通光学显微镜上加荧光光源、激发滤片、双色束分离器和阻断滤片等组成。荧光光源一般采用超高压汞灯（50～200W），经过激发滤片系统发出一定波长的激发光（如紫外光或紫蓝光），激发标本内的荧光物质发射出各种不同颜色的荧光，再通过物镜、目镜的放大进行观察。荧光显微镜主要用于研究细胞的结构、功能及化学成分等。

（五）相差显微镜

相差显微镜（phase contrast microscope）的主要结构特点是在光学系统中有一套特殊装置（如环状光圈和带相板的物镜等），能改变直射光或衍射光的相位；并利用光的衍射和干涉现象，把相差变成振幅差（明暗差），增强反差，以利于观察活体标本或未染色的标本。

（六）共焦点激光扫描显微镜

共焦点激光扫描显微镜（confocal laser scanning microscope, CLSM）的特点是物镜和聚光镜同时聚焦到一个小点，即共聚焦。其优点是实现了点照明，保证只使来自聚焦点的光成像，再加上图像信息的计算机三维重建处理，使观察的标本图像更加清晰。共焦点激光扫描显微镜可用于观察活体胚胎、大脑皮层内微循环、细胞内的网络结构（如内膜系统、细胞骨架及原位染色体等）。

（七）电视显微镜

电视显微镜（video microscope）又叫智能显微镜，它是将普通光学显微镜与彩色高分辨摄像头、高保真录像机及彩色监视器结合制成，使观察效果得到很大的提高并能有效记录。若配上彩色高分辨数码相机、高清晰彩色打印机，就可在观察标本的同时得到高清晰图片。

二、电子显微镜

1932年，德国科学家 Max Knolls 和 Ernst Ruska 发明了电子显微镜（electron microscope）。1939年，西门子公司制造出分辨率达 30 \AA 的世界上最早的实用电子显微镜。电子显微镜的发明和应用，使细胞生物学的研究由显微水平跃进到亚显微水平，巨大地推动了细胞生物学的发展。

（一）透射电子显微镜

透射电子显微镜（transmission electron microscope, TEM）是由电子枪发射的高速电子束经高压加速和聚光透镜的聚焦，然后穿过样品再经过多级电磁透镜（物镜、中间镜、投影镜）放大，最后将高度放大的图像显示在荧光屏上或记录在照相装置中。用于透射电子显微镜观察的样品必须做成超薄切片，一般厚度为 $30 \sim 60 \text{ nm}$ 。

（二）扫描电子显微镜

扫描电子显微镜（scanning electron microscope, SEM）是利用由电子枪发射并经过加速、聚集形成的一束很细小的电子束，在样品表面扫描时电子束中的电子与样品中的原子作用可产生二次电子。二次电子信号的大小依样品表面的外形而异，因而利用反射回来的二次电子信号，经收集放大，在荧光屏上显示出样品表面高度放大的立体图像。用于扫描电子显微镜观察的样品制备较简单，不必制成超薄切片。

（三）扫描隧道电子显微镜

1981年，由 IBM 苏黎世实验室的 Binnig 等发明了放大倍数可达 3 亿倍的扫描隧道电子显微镜（scanning tunneling electron microscope, STM）。STM 是根据量子隧道效应而设计的，可在原子水平上显示物体的表面结构。其分辨力在常温常压下可达纳米以下，高于透射电子显微镜的分辨力。用扫

描隧道电子显微镜可直接观察 DNA 和蛋白质的表面形态,也可对生物膜进行观察分析。

(四) 超高压电子显微镜

超高压电子显微镜 (ultra-high voltage electron microscope, UEM) 是我国最大型的透射电子显微镜,它主要用于观测生物样品、矿物、器件透射电子显微像及电子衍射图,对样品微观结构、组织特征鉴定及缺陷研究等进行定性定量分析。可对样品在加热、拉伸、电子辐照等条件下微观组织的变化过程进行动态观测。与普通电子显微镜相比较,它可以进行微观过程的动态实验观察、辐照效应研究、厚试样和粗大析出物的观察分析及半导体微器件结构研究。

(五) 扫描透射电子显微镜

扫描透射电子显微镜 (scanning-transmission electron microscope, STEM) 是既具有扫描电子显微镜又有透射电子显微镜功能的显微镜。STEM 既与 SEM 一样,能用电子束在样品表面扫描,又与 TEM 一样,可通过电子穿透样品成像。但 STEM 能获得 TEM 所不能获得的一些关于样品的特殊信息。其优点是:①利用 STEM 可以观察厚试样和低衬度试样。②利用扫描透射模式对物镜的强激励可以实现微区衍射。③利用后接能量分析器可以分别收集和处理弹性散射和非弹性散射电子。但 STEM 要求非常高的真空度,并且电子学系统比 TEM 和 SEM 都复杂。

(六) 分析电子显微镜

分析电子显微镜 (analytical electron microscope, AEM) 是由透射电子显微镜、扫描电子显微镜和电子探针组合而成的多功能新型电子显微镜。可在观察样本形貌的同时了解微小区域内所含元素的种类及其含量,在细胞超微结构水平上对其内部的化学元素成分进行定位、定性及定量分析。

普通光学显微镜的结构和功能

在医学教学、科研及临床工作中使用的普通光学显微镜有直立式和倾斜式(图 1-1)两类,均由机械部分、照明部分及光学部分组成。

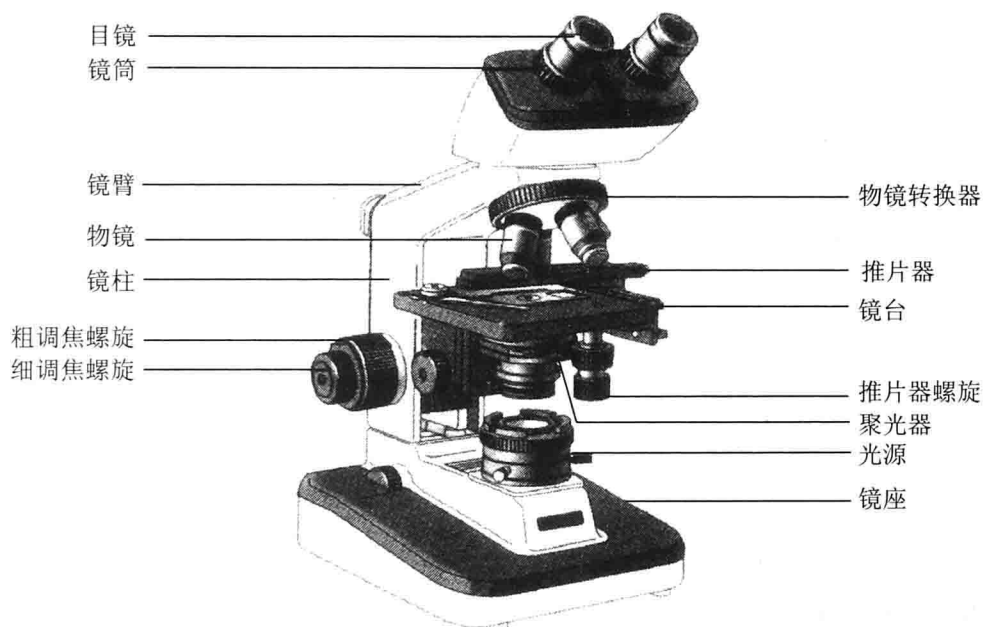


图 1-1 光学显微镜结构示意图

一、机械部分

(一) 镜座

镜座位于显微镜的最下方，是显微镜的基座，起支持和稳定镜体的作用。

(二) 镜柱

镜柱是与镜座和镜臂相连的垂直结构，其上装有调焦螺旋。

(三) 调焦螺旋

调焦螺旋位于镜柱上，呈同心圆式排列，有大小两种螺旋。调焦螺旋的功能是调节焦距，大螺旋为粗调焦螺旋，可使镜台较快速地升降，适用于低倍镜调焦；小螺旋为细调焦螺旋，可使镜台缓慢升降，用作较精细的调节，适用于高倍镜和油镜调焦。

(四) 镜臂

镜臂是手握提的结构，位于镜柱上方，略呈弓形。直立式显微镜在镜臂和镜柱之间有一倾斜关节，使用时可适当倾斜，但倾斜角度不能超过 45° ，以免显微镜翻倒。

（五）镜筒

镜筒是位于镜臂上方的圆筒，上端装有目镜，下端连接物镜转换器。镜筒分单筒式和双筒式两种。

（六）物镜转换器

物镜转换器又叫旋转盘，装在镜筒下方，呈圆盘状，下面有3~4个物镜孔，可安装不同放大倍数的物镜。换用物镜时可转动旋转盘，注意一定要将旋转盘边缘的缺刻和基座上的“T”形卡相扣合，使物镜与光轴合轴，否则无法观察标本。

（七）镜台

镜台又叫载物台，是位于镜臂前方的方形或圆形平台，用于放置玻片标本。镜台中央有一通光孔，镜台上装有推片器，既可固定标本又可前后左右移动，推片器上有纵横游标尺，可利用游标尺上的刻度作为标记，以便寻找物像。老式显微镜的镜台上有一对压片夹，用以固定玻片标本。

二、照明部分

显微镜的照明装置由光源、反光镜、集光器和光圈等部分组成。

（一）光源

显微镜有带光源和不带光源两种。前者采用电光源照明，电光源灯一般装在镜座内或镜座后的灯壳中，可以使用镜座侧面的电压调节器调节光源强度；后者采用自然光源或人工外光源照明。

（二）反光镜

反光镜（mirror）装在镜座上，可向各个方向转动，把光线反射入聚光镜。反光镜的一面是平面镜，另一面是凹面镜。平面镜只有反光作用，一般用于较强光线和固定光源。凹面镜既有反光作用也有聚光作用，适用于较弱光和散射光。有时在使用平面镜时，视野内会出现窗外景物或窗框等，可下降聚光镜或使用凹面镜以消除。

（三）集光器

集光器（condenser）又名聚光器，位于通光孔下方，由一组透镜组成，可使反光镜反射来的光线集中于标本上。在镜柱的一侧有一集光器升降螺旋，可

使集光器升降。集光器上升时光线增强，下降时光线减弱。

（四）光圈

光圈（diaphragm）又叫虹彩光圈或光阑，位于集光器下方，由许多金属薄片组成。侧面有一光阑小柄，拨动小柄可使光圈扩大或缩小，以调节进光量。

三、光学部分

（一）目镜

目镜（ocular）为短筒状，插入镜筒的上端。目镜上刻有 $10\times$ 或 $15\times$ 等符号，表示其放大倍数。有的目镜筒内有一指针，用以指明视野中观察物像的部位，以利示教和提问。

（二）物镜

物镜（objective）装在物镜转换器下方，依放大倍数不同分为低倍镜、高倍镜和油镜。低倍镜短，镜孔直径最大，放大倍数一般为 $10\times$ ；高倍镜较长，镜孔直径较小，放大倍数为 $40\times$ 、 $45\times$ 或 $60\times$ ；油镜最长，镜孔直径最小，放大倍数为 $100\times$ 。

通常在物镜上刻有相应的标记，如在 $10\times$ 的物镜上刻有 $10/0.25$ 和 $160/0.17$ 。 10 表示物镜放大倍数， 0.25 表示镜口率， 160 表示镜筒长度， 0.17 表示盖玻片厚度，二者的单位均为毫米（mm）。

镜口率又称数值孔径（numerical aperture, N.A）*，可反映物镜分辨力的大小，数字越大表示分辨力越高，一般 $10\times$ 物镜的N.A为 0.25 ， $40\times$ 物镜的N.A为 0.65 ， $100\times$ 物镜的N.A为 1.25 。

显微镜的总放大倍数等于目镜和物镜放大倍数的乘积。如目镜 $10\times$ 、物镜 $100\times$ ，则放大倍数为 $10\times 100=1000$ 倍。

光学显微镜的使用方法

在使用显微镜时，应右手握镜臂左手托镜座，从镜盒中取出显微镜轻放在自己座位左前方的实验台上，距离实验台边缘 $5\sim 6\text{cm}$ 处为宜。直立式显微镜

* $N.A = n \cdot \sin\theta$ ，其中 n 为介质的折射率， $\sin\theta$ 为透镜视锥半顶角的正弦值

可使用倾斜关节，让镜筒略向自己倾斜（不能超过 45° ）以便观察。

一、低倍镜的使用

（一）对光

先转动粗调焦螺旋使镜筒升高，再旋转物镜转换器使低倍镜对准通光孔（可听到轻微的碰撞声）。然后打开光圈，上升集光器，双眼睁开，左眼对准目镜观察，反复转动反光镜，直到视野内光线明亮均匀为止。

（二）放片

取一张玻片标本，认清标本的正反面，将正面朝上，用推片器固定。然后移动玻片，将要观察的标本对准通光孔的中央。

（三）调焦

从侧面注视低倍镜，转动粗调焦螺旋使低倍镜距玻片标本约 0.5cm 。然后用左眼观察视野，向相反的方向缓慢转动粗调焦螺旋，使低倍镜慢慢上升，当视野中出现物像时再用细调焦螺旋调节，直到物像清晰为止。

如果在调节焦距时物镜与标本之间的距离已超过工作距离（指显微镜物像调节清晰时，物镜最下面透镜的表面与盖玻片上表面的距离）仍未见到物像，则应该严格按上述步骤重新操作。

如果物像不在视野中央，可前后左右移动标本，注意玻片移动的方向与物像移动的方向相反。如果光线太强或太弱，可慢慢地缩小或扩大光圈；也可下降或上升集光器，找到最合适的光亮度。注意最强的光线不一定是最合适的光亮度。

二、高倍镜的使用

第一步：先在低倍镜下找到物像，然后将要放大观察的部分移至视野正中央，并调节清晰。

第二步：从侧面注视，移走低倍镜转换高倍镜。

第三步：从目镜中观察，可见视野中有不太清晰的物像，此时慢慢地转动细调焦螺旋即可见到清晰的物像。注意使用高倍镜时不要随意转动粗调焦螺旋，以免镜筒下降幅度大而损坏标本或镜头。

如果按上述操作看不到物像，应该检查可能的原因：①目的物不在视野中，

可能是低倍镜下没有将其移至视野正中；②低倍镜的焦距是否调好；③玻片标本是否放反；④物镜是否松动或有污物。

三、油镜的使用

第一步：在高倍镜下将拟用油镜观察的目的物移至视野正中央。

第二步：光圈开大，集光器上升到最高位置。

第三步：旋转物镜转换器移走高倍镜，眼睛注视侧面，在欲观察玻片标本的部位上滴一滴香柏油，转换油镜使油镜头与香柏油接触。

第四步：从目镜观察，同时慢慢上下转动细调焦螺旋直至出现清晰的物像。

油镜用完后必须把镜头和标本片上的香柏油擦干净。先用擦镜纸蘸少许擦镜油将香柏油擦去后，再用干净擦镜纸擦净。但无盖玻片的标本不能擦，以免损坏标本。临时制片因有水分，不宜用油镜观察。

标本的观察与操作练习

取家兔肌肉、肝脏或肾脏切片，按照上述显微镜的正确使用方法，反复练习低倍镜和高倍镜的使用，为以后的实验打好基础。

作业与思考

1. 怎样区分低倍镜、高倍镜和油镜？错用物镜可能会造成什么后果？
2. 在对光时，如果视野中出现窗外景物或窗框，应该怎样处理？
3. 如何调节视野内的光线强度？
4. 使用显微镜观察标本，为什么一定要从低倍镜到高倍镜再到油镜的顺序进行？
5. 如果在高倍镜下未看到物像，可能有哪些原因？应该怎样解决？
6. 在转动细调焦螺旋时，若已达极限不能转动应该采取什么措施？

【附】使用显微镜的注意事项

1. 取放显微镜时，一定要一手握镜臂，一手托镜座，切勿单手斜提，以免碰坏显微镜或造成零部件脱落。