

医学细胞生物学与遗传学

实验教程

YIXUE XIBAOSHENGWUXUE YU YICHUANXUE SHIYAN JIAOCHENG

主 编
朴贤玉 岳丽玲
于海涛



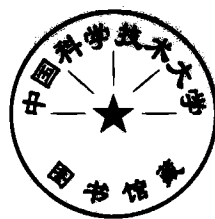
人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

医学细胞生物学与遗传学实验教程

YIXUE XIBAOSHENGWUXUE YU YICHUANXUE SHIYAN JIAOCHENG

主 编 朴贤玉 岳丽玲 于海涛
主 审 郑立红



人民军医出版社

People's Military Medical Press

图书在版编目(CIP)数据

医学细胞生物学与遗传学实验教程/朴贤玉等主编. 北京:人民军医出版社,2004.8

ISBN 7-80194-265-5

I. 医… II. 朴… III. ①人体细胞学:细胞生物学—实验—医学院校—教材②医学遗传学—实验—医学院校—教材 IV. ①R329.2-33②R394-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 012929 号

策划编辑:张怡泓 加工编辑:于哲 责任审读:李晨
版式设计:周小娟 封面设计:吴朝洪 责任监印:陈琪福
出版人:齐学进

出版发行:人民军医出版社 经销:新华书店

通信地址:北京市复兴路 22 号甲 3 号 邮编:100842

电话:(010)66882586(发行部),51927290(总编室)

传真:(010)68222916(发行部),66882583(办公室)

网址:www.pmp.com.cn

印刷:京南印刷厂 装订:桃园装订厂

开本:787mm × 1092mm 1/16

印张:12.25 字数:295 千字

版次:2004 年 8 月第 1 版 印次:2004 年 8 月第 1 次印刷

印数:0001~5000

定价:13.50 元

版权所有 侵权必究

购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换

电话:(010)66882585、51927252

内 容 提 要

本教程分为两部分,第一部分为细胞生物学,第二部分为医学遗传学,共 53 个实验。每个实验由实验目的、实验用品、实验内容及方法、实验结果与分析、思考题组成,对实验步骤的介绍清晰简洁、重点突出、便于理解和操作,既注重对基础知识的讲解,又注重对学生动手能力的培养。可作为医学院校本科、专科、中专各专业的医学生物学以及遗传学的实验课教材。

责任编辑 张怡泓 于 哲

编写人员名单



主 编 朴贤玉 岳丽玲 于海涛
副主编 陈 平 戚晓利 王 英
编 委 (以姓氏笔画为序)
于海涛 王 玉 王 英 王 睿
王秀华 朴贤玉 刘 枫 刘桂玲
张永明 张淑玲 陈 平 郑立红
岳丽玲 戚晓利
主 审 郑立红

前 言

21 世纪将是生命科学的时代,在面向新世纪的医学教育中,细胞生物学与医学遗传学已成为推动医学进入分子水平的带头学科,肩负着重大的历史使命。随着分子生物学实验方法的引入,细胞生物学与遗传学实验方法有了突飞猛进的飞跃。适应 21 世纪医学发展的需要,我们特编此教程,以培养学生的创造性思维,提高学生的基本技术操作水平。

《医学细胞生物学与遗传学实验教程》一书是由齐齐哈尔医学院、佳木斯医学院、牡丹江医学院等院校共同组织编写的。医学细胞生物学与遗传学实验是基础医学教学的重要组成部分,它既与生物学基础理论知识有密切的联系,又有其独特的目的与任务。因此,本书在原有的实验教学内容的基础上,加强和充实了细胞学和遗传学实验,并增加了分子生物学的基本实验技术,力求推动医学院校实验教学的改革和发展。

本书共分为两部分。第一部分为细胞生物学实验(28 个实验),第二部分为医学遗传学实验(25 个实验),并附有常用溶液的配制、常用仪器保养及使用注意事项。本书可供高等医学院校本、专科各专业学生使用,也可供具有大学专科以上学历的医务工作者学习参考。

由于编者水平有限,时间仓促,欠妥之处在所难免,恳请各位同仁及读者予以指正。

编 者

目 录

第一部分 细胞生物学实验	(3)
实验一 光学显微镜的构造和使用方法.....	(3)
实验二 动物细胞的显微测量.....	(9)
实验三 细胞内糖原、蛋白质及核酸的显示.....	(11)
实验四 细胞器的光镜观察.....	(15)
实验五 细胞组分的分级分离.....	(20)
实验六 细胞器电镜图片观察与分析.....	(22)
实验七 细胞有丝分裂的制片及观察.....	(25)
实验八 动物骨髓细胞染色体的制备与观察.....	(29)
实验九 绒毛细胞染色体标本的制备与观察.....	(33)
实验十 细胞减数分裂的制片及观察.....	(35)
实验十一 光镜切片标本的制作.....	(39)
实验十二 电子显微镜的结构和使用.....	(43)
实验十三 电子显微镜样本的制备与观察.....	(47)
实验十四 X 染色质标本的制备及观察.....	(50)
实验十五 培养细胞的冻存、复苏与运输.....	(53)
实验十六 细胞的原代培养和传代培养.....	(56)
实验十七 细胞融合.....	(59)
实验十八 细胞生理活动的观察.....	(62)
实验十九 细胞骨架的观察.....	(66)
实验二十 体外培养细胞的计数、测量与死活鉴别.....	(69)
实验二十一 培养细胞的分裂指数和集落形成率的测定.....	(72)
实验二十二 E. coli 感受态细胞的制备和转化.....	(74)
实验二十三 应用细胞融合技术制备染色体提前凝集标本.....	(76)
实验二十四 酶联免疫吸附测定法.....	(79)
实验二十五 显微摄影技术.....	(85)
实验二十六 体外培养细胞的转化.....	(91)
实验二十七 细胞癌基因转染技术.....	(95)
实验二十八 流式细胞术的原理及其应用.....	(98)
第二部分 医学遗传学实验	(101)
实验二十九 小鼠骨髓细胞染色体标本制备与分析.....	(101)
实验三十 人类外周血淋巴细胞培养及染色体制备与分析.....	(103)

实验三十一	人类体细胞染色体的核型分析	(107)
实验三十二	人类体细胞 G 显带染色体的核型分析	(109)
实验三十三	正常人体细胞 G 显带染色体制备与观察	(112)
实验三十四	高分辨显带染色体标本的制备	(115)
实验三十五	人类外周血淋巴细胞姊妹染色单体互换(SCE)标本的制备与分析	(117)
实验三十六	银染核仁形成区与近端着丝粒染色体随体联合	(120)
实验三十七	人类性染色质的制片与观察	(122)
实验三十八	微核测定	(125)
实验三十九	皮纹分析与 PTC 尝味	(127)
实验四十	课堂讨论	(132)
实验四十一	遗传病与先天畸形	(134)
实验四十二	人类基因组 DNA 的提取	(135)
实验四十三	DNA 限制性内切酶酶解及酶解片段的电泳分离	(137)
实验四十四	Southern 印迹转移	(139)
实验四十五	DNA 分子杂交	(141)
实验四十六	荧光原位杂交技术	(143)
实验四十七	比较基因组的杂交	(146)
实验四十八	DNA 探针的分离回收及标记	(148)
实验四十九	cDNA 文库的构建	(150)
实验五十	PCR 技术的应用	(152)
实验五十一	PCR-ELISA 端粒酶检测法	(168)
实验五十二	质粒 DNA 的提取和纯化	(172)
实验五十三	细胞总 RNA 的提取	(174)
附录 A	常用溶液的配制	(176)
附录 B	常用仪器的使用方法与保养	(183)

实验要求

一、医学细胞生物学与遗传学实验课的目的和任务

实验课是整个教学环节的重要组成部分,它既与理论讲授有密切联系,又有自己特殊的目的与任务。

1. 通过实验可了解生物学基础理论的由来,同时又可获得感性认识。
2. 使学生掌握一定的细胞生物学的基本实验技能。如显微镜的使用、实验动物的解剖及染色体标本的制备与观察、生物学绘图等。
3. 通过实验培养学生实事求是的科学态度和独立的工作能力。

因此,实验课并不是单纯地复习验证理论课讲授的内容,更重要的是学习观察生命现象的方法,达到巩固和加深对生物界发生发展普遍规律的理解的目的。

二、医学细胞学与遗传学实验报告的书写

实验报告是学生在上完实验课后,在课堂内完成的一种作业形式。实验报告要如实反映实验结果,绘图要真实客观,实验数据要真实准确,必须遵循实事求是的原则。填写实验报告时要按格式要求完成,字迹工整、清晰、准确。

(一)绘图

绘图是医学细胞学与遗传学实验课实验报告中的一项重要内容,它要求将观察到玻片标本的形态结构通过作图的方式直观地表达出来:

1. 绘图前要认真地观察标本,依据镜下所见的实物物像进行描绘,力求真实、准确、一致。
2. 绘图时注意线条清晰明确,图的深浅明暗处一律用稠密不同的细点(细点的多少)来表示,严禁乱涂乱抹,并一律用铅笔绘图,不得使用钢笔或油笔。
3. 标本的结构名称,要用引线平行引出,要求引线整齐,不得交叉混乱,注意字迹工整。

(二)文字描述

文字描述是将观察时所看到的和实验所获得的结果,用文字加以客观的描述和叙述,有时还需作进一步得分析。在文字描述的过程中,要抓住主要问题,表达的条理要清晰,文字要简明。

(三)列表

列表是设计一适当的表格,将实验结果和实验过程的有关内容、数据逐项填入,以表示其相互关系,便于相互比较。列表是写实验报告比较直观、简单、明了的一种方法。

三、实验规则

1. 课前必须预习实验指导,明确本次的实验目的和要求,熟悉实验内容和方法。对较难的实验应写明简要程序。
2. 上课时必须携带实验指导、实验报告纸、穿好实验服,按指定座位入座。进入实验室后

要做到安静整洁,遵守实验室纪律。

3. 实验前要认真检查所有器材、药品等是否完好、齐全。如有缺损要及时向教师汇报,主动登记,不得随意移动必要时按章处理。

4. 按实验指导进行实验,操作要正规,观察要认真,按时完成实验报告。

5. 实验完毕,将所用器材刷洗干净,放回原处。清扫实验室,检查好水、电、门窗方可离开。

6. 遵守请假制度,不得无故旷课、迟到或早退。

第一部分 细胞生物学实验

实验一 光学显微镜的构造和使用方法

【实验目的】

1. 熟悉光学显微镜各部分的结构和用途,掌握显微镜维护的基本知识。
2. 初步掌握低倍镜、高倍镜和油镜的使用方法。

【实验用品】

1. 材料 羊毛装片、血涂片、字母装片、兔脊神经节切片。
2. 器材 显微镜、擦镜纸、载玻片、香柏油、二甲苯。

【实验内容与方法】

一、显微镜的构造

显微镜是一种复杂的光学仪器。它是医学实验常用工具之一,其作用是将观察的标本放大,以便观察和分析。

一般光学显微镜包括机械装置和光学系统两大部分,如图 1-1 所示。

(一)机械装置

1. 镜座 位于最底部的构造,为整个显微镜的基座,用以支持着整个镜体,起稳固作用。
2. 镜柱 为垂直于镜座上的短柱,用以支持镜臂。
3. 镜臂 为支持镜筒和镜台的呈弓形结构的部分,是取用显微镜时握拿的部分。镜筒直立式光镜在镜臂与其下方的镜柱之间有一倾斜关节,可使镜筒向后倾斜一定角度以方便观察,但使用时倾斜角度不应超过 45° ,否则显微镜由于重心偏移容易翻倒。
4. 调节器 也称调焦螺旋,为调节焦距的装置,位于镜臂的上端(镜筒直立式光镜)或下端(镜筒倾斜式光镜),分粗调节器(大螺旋)和细调节器(小螺旋)两种。粗调节器可使镜筒或镜台作较快或较大幅度的升降,能迅速调节好焦距,适于低倍镜观察时调焦。细调节器可使镜筒或镜台缓慢或较小幅度地升降,使用于在低倍镜下用粗调节器找到物体后,在高倍镜和油镜下进行焦距的精细调节,借以对物体不同层次、深度的结构做细致地观察。

5. 镜筒 位于镜臂的前方,它是一个齿状脊板与调节器相接的圆筒状结构,上端装载目镜,下端连接物镜转换器。根据镜筒的数目,光镜可分为单筒式和双筒式。单筒光镜又分为直立式和倾斜式两种,镜筒直立式光镜的目镜与物镜的光轴在同一直线上,而镜筒倾斜式光镜的目镜与物镜的中心线互成 45° 角,在镜筒中装有使光线转折 45° 的棱镜;双筒式光镜的镜筒均为倾斜式的。

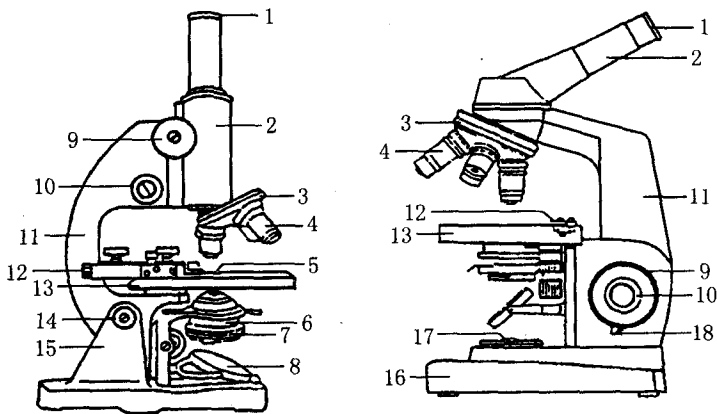


图 1-1 显微镜的结构

注:1. 目镜;2. 镜筒;3. 物镜转换器;4. 物镜;5. 通光孔;6. 聚光器;
7. 光圈;8. 反光镜;9. 粗调节器;10. 细调节器;11. 镜臂;12. 推进器;13. 载物台;14. 倾斜关节;15. 镜柱;16. 镜座;17. 照明装置;
18. 粗调限位环凸柄

6. 物镜转换器 又称旋转盘,位于镜筒下端的一个可旋转的凹形圆盘上,一般装有 2~4 个放大倍数不同的接物镜。旋转它就可以转换接物镜。旋转盘边缘有一定卡,当旋至物镜和镜筒成直线时,就发出“咔”的响声,这时方可观察玻片标本。

7. 镜台 也称载物台,是位于镜臂下面的平台,用以承放玻片标本。载物台中央有一圆形的通光孔,光线可以通过它由下向上反射。

8. 标本推进器 位于镜台的后方或侧面边缘,连一可动弧形弹簧夹。其上方或下方一侧有两个旋钮,转动旋钮可调节推进器,使玻片标本前后或左右移动。

标本推进器上有纵横游标尺,用以测定标本在视野中的方位及其大小。游标尺一般由主标尺(A)和副标尺(B)组成。副标尺的分度为主标尺的 $\frac{9}{10}$ 。使用时,首先看副标尺的 0 点位置。然后看主、副标尺的一致点。如图 1-2 所示,副标尺的 0 点主标尺的 26 与 27 之间,副标尺的 6 与主标尺的 32 一致,即 6 与主标尺上的一个分度线正对,则此标尺所表示的数值为 26.6mm。

(二)光学系统

1. 反光镜 是装在镜台下面、镜柱前方的一面可转动的圆镜,它有平凹两面。平面镜聚光力弱,适合光线较强时使用。凹面镜聚光力强,适于

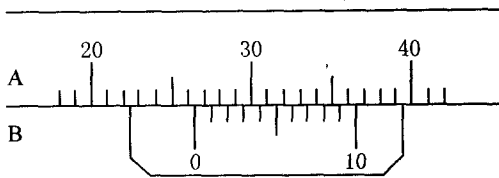


图 1-2 游标尺的用法

光线较弱时使用。转动反光镜,可将光源反射到聚光镜上,再经镜台中央圆孔照明标本。

2. 聚光镜 在镜台下方,是一组透镜,用以聚集光线增强视野的亮度。镜台上方有一调节旋钮,转动它可升降聚光镜。往上升时增强反射光,下降时减弱反射光。

3. 可变光栏 是在聚光镜底部的一个圆环状结构。它装有多片半月形的薄金属片,叠合在中央成圆孔形。在圆环外缘有一突起的小柄,拨动它可使金属片分开或合拢,用以控制光线的强弱,使物像变得更清晰。

4. 目镜 装在镜筒上端,其上一般刻有放大倍数(如 $5\times$, $10\times$)。目镜内常装有一指示针,用以指示要观察的某一部分。

5. 物镜 装在物镜转换器上,一般分低倍镜、高倍镜和油镜三种。低倍镜镜体较短,放大倍数小;高倍镜镜体较长,放大倍数较大;油镜镜体最长,放大倍数最大(在镜体上刻有数字,低倍镜一般有 $4\times$, $10\times$;高倍镜一般有 $40\times$, $45\times$;油镜一般是 $90\times$, $100\times$; \times 表示放大倍数)。

显微镜放大倍数的计算:目镜放大倍数 \times 物镜放大倍数=显微镜对实物的放大倍数。

二、显微镜的使用方法

(一)低倍镜的使用

1. 把显微镜放在桌面的左侧,镜臂对向胸前,坐下进行操作。用手转动粗调螺旋,使镜筒上升,然后转动物镜转换器,使低倍镜对准镜台中央圆孔(当转动到听见“咔”声响,或同时亦感到有阻力时立即停止转动,说明物镜已与镜筒成一直线)。

2. 对光 拨动聚光镜底部圆环的小柄,使光栏完全打开。旋转聚光镜升降螺旋,使聚光镜上升到和镜台相平。用左眼(两个眼睛都要睁开)在目镜上观察,同时用手调整反光镜,对好光源。要求视野达到完全均匀明亮。

3. 放置玻片标本 取蛙血玻片标本放在镜台上,有盖玻片的一面朝上。玻片两端用移动器夹住,然后转动螺旋,使玻片上要观察的标本对准镜中央圆孔。注意,镜台上的刻度可以标示玻片的坐标位置。

4. 调节物距 转动粗调螺旋,使低倍镜距玻片标本 0.5mm 左右。注意:必须从显微镜侧面观察物镜与玻片的距离。切勿用眼在目镜上观察的同时转动粗调螺旋,以防镜头碰撞玻片造成损坏。用左眼从目镜上观察,用手慢慢转动粗调螺旋下降镜台,当视野中出现物像时,再调节细调螺旋,直至视野中出现清晰的物像(许多椭圆形的红细胞)为止。如果物像不在视野中央,可稍微移动玻片位置(注意:移动玻片的方向与观察物像移动的方向恰好是相反的)。

反复练习上述各操作步骤,做到迅速熟练地找到标本,以及取光合适(即较熟练的应用反光镜、光栏和聚光镜)。

(二)高倍镜的使用

1. 一定要先在低倍镜下找到要观察的标本物像后,并把要放大的部分移至视野正中,同时调节到最清晰程度,才能进行高倍镜的观察。

2. 转动物镜转换器,使高倍镜转到镜台中央圆孔处。转换高倍镜时速度要慢,要细心,并从侧面进行观察(防止高倍镜碰撞玻片)。如果高倍镜碰到玻片,说明低倍镜的物距没有调节好,应重新进行操作。

3. 调节物距。转换好高倍镜后,用左眼在目镜上观察。这时物像往往不清楚或者要观察的部分不在视野当中,可用细调螺旋慢慢向上或向下转动(切勿用粗调螺旋)即能清楚看到物

像。一般只需转动半圈或一圈就能达到要求。在高倍镜下,可见蛙血红细胞呈椭圆形,外被细胞膜,膜内为浅红色细胞质,中央有一圆形呈蓝紫色的细胞核。

(三)油镜的使用

1. 首先在高倍镜下找到所要观察的标本后,把所要观察的部分移至视野中央。
2. 转动物镜转换器,移开高倍镜,在标本上所要观察的位置加一滴镜油(香柏油)。
3. 转动物镜转换器,转换油镜,使之对准镜台中央圆孔处,浸在油滴中。
4. 转换好油镜后,用左眼在目镜上观察。物像如不清楚,可用细调螺旋慢慢向上或向下转动,即能清楚地看到物像。如仍看不清标本,需重新用低倍镜、高倍镜观察,然后再转换油镜。

5. 观察完标本后,用滴加上二甲苯的擦镜纸擦拭干净油镜镜头,再用另一张清洁的擦镜纸盖在玻片标本上,滴上1~2滴二甲苯,轻拉擦镜纸,将玻片上的镜油擦去。注意,勿擦坏标本。

三、使用显微镜注意事项

1. 持镜时要一手紧握镜臂,一手托住镜座,绝不能一把提起显微镜便走,以防目镜从镜筒滑出或反光镜脱落。
2. 轻拿轻放,不要把显微镜放在实验台边缘,防止碰翻落地。
3. 显微镜光学系统部件要用清洁的擦镜纸轻轻揩擦,切勿口吹、手抹或用粗布揩擦。
4. 使用时先用低倍镜调整光线。观察活体标本或染色较浅的标本时,要适当关小可变光栏使视野变暗,方能看得清楚。
5. 放置玻片标本时要对准镜台孔正中央,并且不能反放玻片,如标本玻片反放时高倍镜下看不到物像,并容易压坏玻片或物镜。
6. 观察时要双目睁开,切勿闭上一只眼睛。左眼观察视野,右眼用以绘图。低倍镜用粗调螺旋调节物距,高倍镜要用细调螺旋,粗、细调节螺旋都不能单方向过度地旋转。单向上升粗调螺旋会压碎镜片和损坏物镜。
7. 不要随便取出目镜,以防尘土落入物镜上。也不要任意拆卸任何零件,以防损坏。
8. 使用完毕后,转动粗调螺旋使镜台下降,取下玻片,转动物镜转换器,使物镜离开聚光孔。再上升镜台使物镜接近镜台(不要对着镜台孔)。然后以右手握镜臂,左手托镜座轻轻放入镜箱中。
9. 每次使用显微镜之前,先按显微镜登记卡片逐项检查显微镜各部分有无损坏。如发现损坏,应及时向教师报告。使用之后,认真填写显微镜使用登记卡片。

四、操作练习

(一)低倍镜、高倍镜的使用练习

1. 观察文字或字母装片:取一片字母装片,用低倍镜观察,反复练习对光、调光、标本放置和调节焦距等。如将玻片前后左右移动时,注意物像与玻片移动方向是否一致,玻片上的字母是正像还是反像,为什么?
2. 观察羊毛片(或头发)交叉装片:取一张毛(发)交叉装片,先用低倍镜观察,找到两根毛(发)后,再将毛(发)交叉点移到视野中央,然后换高倍镜观察,再轻微转动细调节器,观察不同

层次,判定哪条毛(发)在上方,哪条位于下方。

(二)油镜的使用练习

1. 取一张血涂片或取血一小滴,滴于清洁的载玻片一端,另取一张边缘平整的载玻片,按照图 1-3 所示做成血涂片。先用低倍镜再用高倍镜进行观察。

2. 用油镜观察,并分辨红细胞、白细胞和淋巴细胞,比较三种物镜的放大倍数和分辨率。

3. 观察兔脊神经节切片(示固定染色的细胞)。取兔脊神经节切片标本先在调好光线的低倍镜下观察(固定染色的标本需调较亮光),低倍镜下找到要观察的标本,为淡紫色的神经节切面,在其外围包有被膜,且向内伸入,形成神经节的结缔组织支架,节内有许多大小不等的神经细胞,呈散在分布。然后转换高倍镜,选择完整而清晰的圆形神经细胞仔细观察其内部结构。可见到在细胞中央有一圆形核,核内有着色为深紫红色的圆形核仁及染色质颗粒,核与细胞膜之间是均匀浅紫色的细胞质,在细胞的外面围有若干个被囊细胞,它起保护神经细胞的作用。在神经细胞之间还可看到有轴索横断面和许多神经纤维,多呈交错排列。

4. 观察完毕,务必将油镜按正确方法擦净。

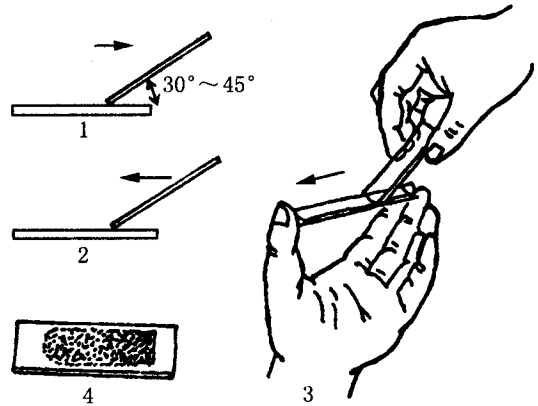


图 1-3 血涂片的制备方法

五、其他几种显微镜简介

目前在生物学和医学研究中,常用的显微镜,还有以下几种:

1. 双筒解剖显微镜 解剖较小标本或观察玻片标本的全貌时,需使用解剖显微镜,以观察自然状态下较小的实体(正像)和较大的玻片标本,或解剖细小生物。

2. 暗视野显微镜 是一种具有暗视集中器或中央遮光板的显微镜。即在聚光镜上加一特殊装置,使光线从集光器透镜的边缘衍射或反射到标本上,经标本反射投入物镜内,使整个视野变暗,故能在视野中见到被检物体衍射之图像。这种显微镜可观察运动着的有机体。

3. 荧光显微镜 其特点是以紫外光为光源,利用紫外光照射,使标本内的荧光物质激发出不同颜色的荧光,以研究标本内某些物质的特征和位置。有些物质本身能发出荧光,有些物质需经荧光染料染色后才能发出荧光。

4. 相差显微镜 活细胞在普通光镜下,一般不能分辨其细微结构。这是由于各细微结构的折光性很近似或对比不够显著的缘故。相差显微镜则是在聚光器下装一个环状光栏,其物镜是安有相板的相差物镜。环状光栏的作用是造成空心的光线锥,使直射光和衍射光分离。相板的作用是使直射光和衍射光发生干涉,导致相位差变成振幅差(即明暗差),使反差加强。所以,可以观察活细胞中不同染色的微细结构。

5. 倒置显微镜 物镜位于标本的下方,而光源位于标本的上方。主要用于细胞培养时观察培养瓶中细胞的生长情况。

【实验报告与思考题】

绘图

1. 绘制兔脊神经节细胞(高倍视野)。
2. 绘制蛙血细胞(油镜视野)。

思考题

1. 怎样区分低倍镜、高倍镜和油镜,为什么用高倍镜或油镜时,必须从低倍镜开始?
2. 如果在高倍镜下未找到你所要看的物像,应从哪些方面找原因?
3. 经过哪些步骤才能在物镜下找到清楚的物像?

(于海涛)

实验二 动物细胞的显微测量

【实验目的】

掌握动物细胞显微测量的方法。

【实验原理】

细胞的大小,一般可以用显微测微尺来加以测量。显微测微尺是由目镜测微尺和物镜测微尺组成的,两尺必须配合使用。目镜测微尺是放入目镜内像平面上的标尺,是一特制的圆形小玻片,其上刻有 50 或 100 等分的刻度,每一刻度所代表的长度随放大倍数而改变。因此,使用前必须测定。镜台测微尺是在一块载玻片中央由圆形盖玻片封固的标尺,长度为 1mm 或 2mm,分为 100 格或 200 格,每格的长度为 0.01mm(10 μ m)。其目镜测微尺的长度标定方法和细胞显微测量方法如下。

【实验用品】

1. 材料 蟾蜍血涂片。
2. 器材 显微镜、目镜测微尺、物镜测微尺。

【实验内容及方法】

1. 将镜台测微尺置于载物台中央(注意刻度面朝上),用低倍镜调准焦距,进行观察,找到镜台测微尺的刻度。每大格为 0.1mm,每小格为 0.01mm。

2. 取下目镜的上透镜,将目镜测微尺有刻度的一面朝下,放在目镜内光栏下,再旋上目镜的上透镜。

3. 从目镜中观察目镜测微尺和镜台测微尺的刻度,转动目镜筒或移动镜台测微尺,使两标尺平行。转换高倍镜,在视野中使目镜测微尺的任一刻度线与镜台测微尺的任一刻度线重和为起点,沿着两标尺平行方向,找到另一重和刻度线为终点,记录下其间各自的格数,就可以算出目镜测微尺每小格的长度。公式如下: $L=10 \times B/A(\mu\text{m})$ 。

A=目镜测微尺格数;B=镜台测微尺格数;L=目镜测微尺每小格所代表的长度。

4. 取下镜台测微尺,换上需测量玻片标本,记录目镜测微尺所测量的标本的刻度,乘以 L,即为标本的尺度。

5. 蟾蜍红细胞的测量。注意将被测的细胞移放在视野的中央。为避免细胞之间的误差,需分别记录 5 个细胞的数据,取其平均值。

6. 更换物镜或目镜时,需重新标定刻度。