

实用细胞生物学 实验指导

苏莉 李奇志 周爱文 王珍 主编

实用细胞生物学实验指导

主 编 苏 莉 李奇志 周爱文 王 珍



华中科技大学出版社

中国·武汉

图书在版编目(CIP)数据

实用细胞生物学实验指导/苏莉等主编. —武汉:华中科技大学出版社,2014.12
ISBN 978-7-5609-9713-1

I. ①实… II. ①苏… III. ①细胞生物学-实验-高等学校-教学参考资料 IV. ①Q2-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 289813 号

实用细胞生物学实验指导

苏 莉 李奇志 周爱文 王 珍 主编

策划编辑:罗 伟

责任编辑:史燕丽

封面设计:范翠璇

责任校对:刘 竣

责任监印:周治超

出版发行:华中科技大学出版社(中国·武汉)

武昌喻家山 邮编:430074 电话:(027)81321913

录 排:华中科技大学惠友文印中心

印 刷:武汉鑫昶文化有限公司

开 本:787mm×1092mm 1/16

印 张:7

字 数:120千字

版 次:2015年7月第1版第1次印刷

定 价:19.80元



本书若有印装质量问题,请向出版社营销中心调换
全国免费服务热线:400-6679-118 竭诚为您服务
版权所有 侵权必究

课程基本信息

1. 概述

随着医学和生命科学的迅猛发展,细胞生物学在理论和技术上都有了飞速的进步,对医学、生物学的影响也越来越深入,已成为现代医学和生物学中不可缺少而且是发展最迅速的学科。细胞生物学、医学细胞生物学课程,包括理论课和实验课两个部分,是生物科学、生物技术、生物医学工程以及临床医学、预防医学、药理、法医等各专业的基础课程。

细胞生物学也是一门重要的应用学科,现代生物技术、现代医学实践中的许多方面都以细胞为基本平台。在实验教学中,主要向学生介绍细胞的基本形态观察和显微测量、亚细胞结构观察、细胞表面和细胞内分子检测、细胞功能检测等细胞基本结构观察和功能分析方法,使其熟练掌握显微镜的实用技术、细胞培养、细胞组分的分离与鉴定、细胞融合、细胞化学成分分析等常用的细胞生物学实验技能。

2. 教学目标

实验课是整个细胞生物学教学中一个重要组成部分。通过实验课能加深学生对理论知识的理解和认识,并通过对细胞生命现象的观察和亲手操作,使学生获得有关细胞生命活动的感性知识,有效地提高理论课的教学效果,并培养学生树立独立设计实验的思考观念和独立处理问题、解决问题的能力。学生应达到的实验能力与标准是学会光学显微镜的使用,加深理解细胞的化学成分、结构与功能的关系,加深对细胞的增殖等行为的理解,基本掌握染色体的制备技术和核型分析,等等。

3. 教学策略

教师实验教学策略重在能力的培养,既要培养学生的实验技能,又要促

进其实践能力的提高,关键在于培养学生的主动性和独立性,引导学生在學習过程中养成善于观察、思考、提出问题、分析问题、解决问题的习惯。培养学生学会如何运用所学知识和技术更好地为今后的临床工作服务,即培养学生“学以致用”的指导思想。

4. 评价方法

根据学生的实验预习、实验纪律、实验动手能力及实验报告结果进行综合评定,给出具体分数。

目 录

第 1 章 光学显微镜的构造和使用 /1

实验一 光学显微镜的构造和使用 /1

第 2 章 细胞的基本形态观察和显微测量 /11

实验二 细胞的基本形态观察和显微测量 /11

第 3 章 亚细胞结构观察 /21

实验三 几种细胞器切片的显微观察 /21

实验四 动、植物细胞骨架的制备与观察 /27

实验五 人类中期染色体的制备 /33

实验六 细胞有丝分裂标本的制备与形态观察 /39

实验七 蝗虫精巢减数分裂压片标本的制备与观察 /45

第 4 章 细胞表面和细胞内分子检测 /51

实验八 人类 ABO 血型检测 /51

实验九 鸡红细胞甲基绿-派洛宁染色显示细胞中的 DNA/ RNA /59

实验十 细胞内碱性蛋白质和酸性蛋白质的显示 /65

第 5 章 细胞功能检测 /71

实验十一 酸性磷酸酶的显示 /71

实验十二 细胞内过氧化物酶的显示 /77

实验十三 细胞膜的通透性观察 /83

实验十四 细胞吞噬活动的实验观察 /89

附录 A 生物绘图 /95

附录 B 实验报告书写要求 /97

附录 C 避免实验室常见问题的技术和方法 /100

附录 D 实验安全 /103

附录 E 危机处置 /104

参考文献 /105

实验一 光学显微镜的构造和使用

一、实验原理

光学显微镜,简称光镜(optical microscope or light microscope),是1590年由荷兰的Jansen父子发明的。到17世纪中叶,英国的罗伯特·胡克和荷兰的列文·虎克在目镜、物镜组成的放大系统中加入了光照明系统以及焦距调节系统、载物台等机械系统,从而构成了使用至今的光学显微镜的基本组成部分。光学显微镜可把物体放大1500倍,分辨率的最小极限为 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 。其中,普通光学显微镜主要用于观察生物组织与细胞的显微结构、形态和生长状态,是生物医学研究及临床工作中常用的仪器,熟练操作光学显微镜是细胞生物学实验的基本技术之一。

二、实验目的

- (1)学习普通台式光学显微镜的结构、各部分的功能和使用方法。
- (2)学习并掌握油镜的原理和使用方法。
- (3)了解几种特殊光学显微镜的工作原理及其使用方法。

三、实验设备、材料与试剂

1. 设备

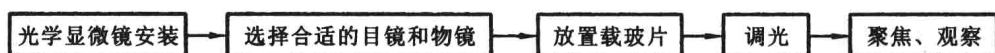
光学显微镜。

2. 材料与试剂

香柏油、二甲苯。

四、实验方法

1. 流程图



2. 内容

1) 光学显微镜的基本结构及其功能

光学显微镜的构造主要分为三部分：机械部分、照明部分和光学部分（图 1-1）。

(1) 机械部分。

①镜座：亦称镜脚，是显微镜的基座，用以支持整个光学显微镜。

②镜柱：镜座向上直立的短柱，用以支持其他部分。

③镜臂：镜柱向上弯曲的部分，适于手握。有些显微镜镜柱与镜臂之间有倾斜关节。

④镜筒：连在镜臂前方的镜筒部分，一般长度为 16 cm。有直筒和斜筒两种，前者镜筒上下可调节，后者镜筒是固定的。

⑤调节器：调节器是装在镜臂上的大、小两种螺旋，转动时可使镜台升降或使镜筒上下移动以调节焦距。

粗调节器（粗螺旋）转动时可使镜台或镜筒在垂直方向以较快速度和较大距离进行上下升降，调节物镜与标本的距离。通常在低倍镜下，先用粗调节器找到物像。

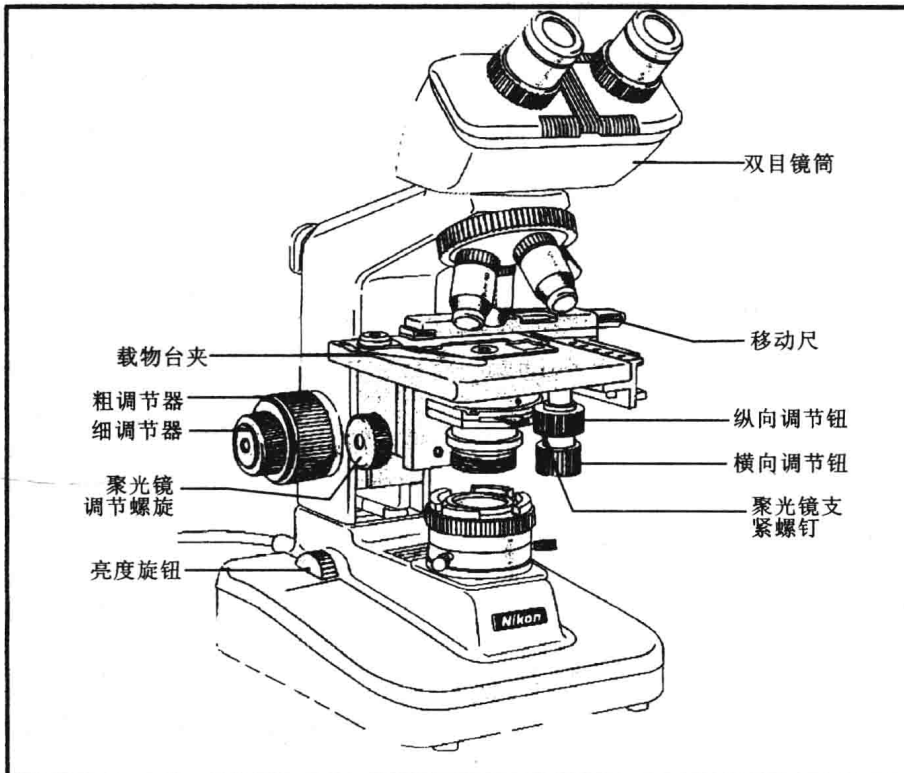
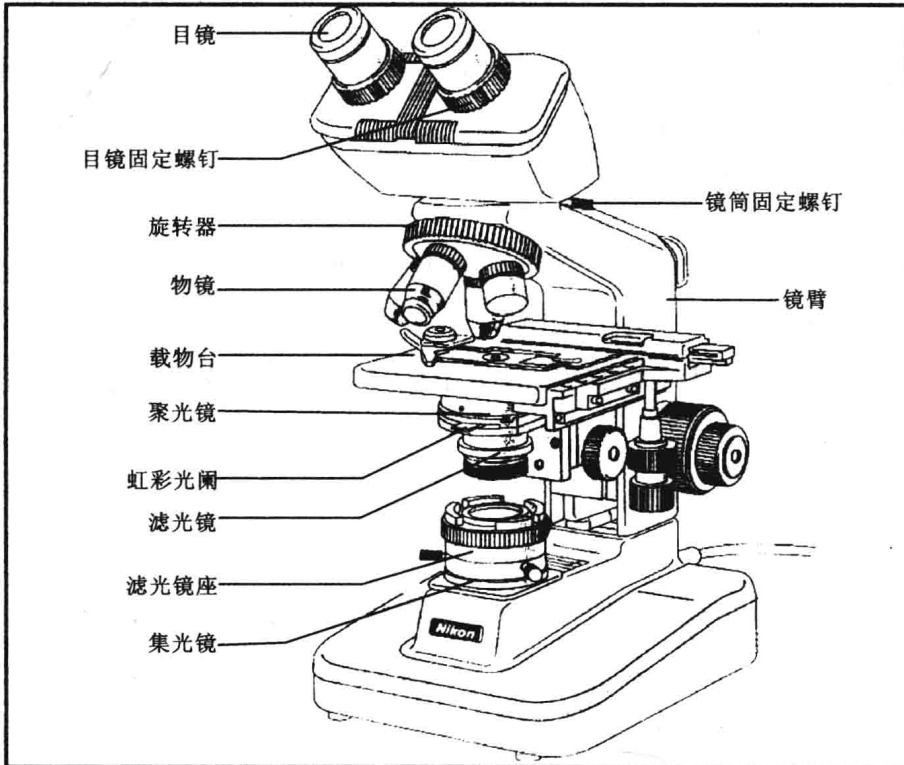


图 1-1 光学显微镜的基本结构

细调节器(细螺旋)形状较小,通常在粗调节器的下方或外侧,转动时可使镜台或镜筒缓慢地上下移动,以精细调节焦距,得到清晰的物像。

⑥旋转器(镜头转换器):装在镜筒的下端,呈盘状,下面有3~4个物镜孔供装置不同放大倍数的物镜。

⑦载物台(镜台):用以放载玻片标本,中间有一通光圆孔,称为镜台孔,由此孔可透入集光器传入的光线。

⑧标本移动器:装于载物台上,用于前后左右移动载玻片标本。移动器上有标尺,可以测定标本大小。

(2)照明部分。

①反光镜(mirror):一个一面平一面凹的双面镜,安装在镜柱基部的前方,可向任意方向转动,其作用是改变光源射出的光线方向,送至聚光镜中心,再经镜台孔照明标本。反光镜的凹面聚光作用较强,通常在光线较弱时使用;在光线强而均匀时,宜用平面镜。

有些光学显微镜采用电光源代替反光镜,使用时接上电源,在打开电源前,先将光照亮度旋至最小位置,然后打开电源,旋转光照亮度旋钮调节光照亮度至适宜为止。关闭电源前,应先将光照亮度旋至最小位置。

②聚光器(又名集光器,condenser):位于载物台下方的聚光器架上,由聚光镜和虹彩光阑组成。

聚光镜由一片或数片透镜组成,其作用相当于一个凸透镜,起会聚光线的作用,一般可通过装在镜柱旁的聚光器调节螺旋的转动而上下移动,上升时视野中光亮度增加,下降时光亮度变弱。虹彩光阑(又名光圈,diaphragm)在聚光镜下方,由十几张活动的金属薄片组成。其外侧伸出一柄,推动此柄可随意调节开孔的大小,以调节光量。

(3)光学部分。

①目镜(ocular):位于镜筒上方,常用的有5×、6×、8×、10×、12×、15×等,数字越大,表示放大倍率越高。一般根据被观察对象的预测大小挑选不同放大倍数的镜头,实用较多的是10×目镜。

②物镜(objective):装在镜筒下端的旋转器上,一般有3~4个物镜。其

中最短的刻有“ $4\times$ ”或“ $10\times$ ”符号的为低倍镜,较长的刻有“ $40\times$ ”符号的为高倍镜;最长的刻有“ $100\times$ ”符号的为油镜。

在物镜上,还有镜口率(NA)的标志。镜口率反映该镜头分辨能力的高低,其数字越大,表示分辨能力越高。物镜的工作距离是指显微镜处于工作状态(物像调节清楚)时,物镜的下表面与盖玻片上表面之间的距离(盖玻片的厚度一般为 0.17 mm)。物镜的放大倍数越大,它的工作距离越小。光学显微镜的放大倍数是物镜的放大倍数与目镜的放大倍数的乘积,例如物镜为 $10\times$,目镜为 $10\times$,其放大倍数就为 $100\times$ 。

2) 光学显微镜的使用方法

(1) 低倍镜的使用方法。

①检查:用右手握镜臂,从镜箱中将光学显微镜取出,左手托住镜座,平稳地放到实验桌上。使用前应先检查一下光学显微镜各部分结构是否完整,如果发现有缺损或性能不良,要立即报告教师,请求处理。

②准备:将光学显微镜放于自己座位面前实验桌稍偏左侧处,镜台向前,镜筒向后,旋转粗调节器使镜台远离物镜,调节旋转器,使低倍镜对准镜台孔,这时可听到旋转器旁边固定扣轻轻碰触而发出的声音,或手上感到一种阻力,说明物镜的光轴已正对镜筒的中心。

③对光:打开光圈,将聚光器上升。双眼同时张开,以左眼向目镜内观察(如为双筒显微镜,用双眼观察,下同),调节反光镜的方向,使光线射入镜筒中,直到有明亮而均匀的视野;或打开电源,调节光照亮度旋钮,直到光照亮度最适宜为止。

④置片和调整焦距:将载玻片标本置于镜台上,注意使有盖玻片的一面朝上,利用标本移动器将玻片夹住,然后将载玻片稍加调节,使标本对准镜台孔。从侧面注视低倍镜,转动粗调节器,使镜台慢慢上升,至物镜距标本半厘米处为止,再以左眼自目镜中观察,左手转动粗调节器使镜台徐徐下降,直到视野中出现标本的物像为止;最后,转动细调节器,使镜台微微上下,调节距离,使物像清晰。

(2)高倍镜的使用方法。

①依上法先用低倍镜找到物像后,将标本欲观察部分移到视野中央。

②眼睛从侧面注视物镜,用手转动旋转器,使高倍物镜对准标本(如果操作正确,此时物镜与标本之间距离正好,不会碰到)。

③眼睛从目镜观测,同时只需轻轻转动细调节器使镜台微微升降,即可得到清晰的物像。

(3)油镜的使用方法。

①同高倍镜的使用方法。

②在载玻片标本上需要观察的部分加少许香柏油,然后转动旋转器,使油镜对准标本。调节油镜使其前端浸在香柏油内,从目镜观察,同时转动细调节器,至视野出现清晰物像。油镜的放大倍数大,故观察时要用较强的光线。

③观察以后,旋转粗调节器使镜台下降(镜筒上升),用擦镜纸将镜头和载玻片标本上的香柏油擦去,可蘸少许二甲苯,但不能用力擦,以免损坏镜头和标本。使用油镜观察水分较多的临时制片时,应事先吸尽水分。

3. 注意事项

(1)取光学显微镜时必须右手握镜臂,左手托镜座,平贴胸前。切勿一手斜提,前后摇摆,以防碰撞和零件跌落。

(2)擦拭光学显微镜的光学玻璃部分,必须使用擦镜纸,切忌用其他硬质纸张或布等擦拭,以免造成镜面划痕。

(3)切忌用水、乙醇或其他药品浸润镜台或镜头。一旦沾染应立即进行处理,以免污染或腐蚀镜头。

(4)放置载玻片标本时,应将盖玻片的一面向上,否则会压坏标本和物镜。

(5)观察时应两眼同时张开,用左眼观察,用右眼注视绘图。左手调节粗、细调节器,右手调节标本移动器和绘图。实验完毕后,将光学显微镜擦拭干净。物镜不要与镜台相对,关闭光圈,适当下降聚光器,将反光镜直立,放回原处。

五、实验结果

1. 原始记录

2. 草图

六、实验报告(请完成后剪下并提交教师)

实验报告一 光学显微镜的构造和使用

姓名：_____

日期：_____

专业班级：_____

老师：_____

1. 实验目的

2. 实验设备、材料与试剂

3. 实验内容

(1) 光学显微镜的基本构造是怎样的？

(2) 光学显微镜的基本使用流程是什么？

(3) 使用光学显微镜的要点是什么？

(4) 如何计算光学显微镜的放大倍数？

4. 讨论与分析

5. 思考题

(1)为什么使用高倍镜和油镜观察时,必须先用低倍镜聚焦对象后再转用高倍镜观察?

(2)如果载玻片标本放反了,用高倍镜或油镜能找到标本吗?为什么?