

高等院校生命科学与技术实验教材

基础生命科学 实验指导

JICHU SHENGMING KEXUE
SHIYAN ZHIDAO

王洪钟 陈金春 吴庆余 主编



清华大学出版社

高等院校生命科学与技术实验教材

基础生命科学实验指导

主 编 王洪钟 陈金春 吴庆余

编 者 (以姓氏拼音为序)

陈金春 李玉明 王宏英 王洪钟

吴庆余 余冰宾 张贵友

清华大学出版社

北 京

版权所有,侵权必究。侵权举报电话:010-62782989 13701121933

图书在版编目(CIP)数据

基础生命科学实验指导/王洪钟,陈金春,吴庆余主编. —北京:清华大学出版社,2009.3

ISBN 978-7-302-18907-7

I. 基… II. ①王… ②陈… ③吴… III. 生命科学—实验—自学参考资料
IV. Q1-0

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 177959 号

责任编辑:罗 健

责任校对:王淑云

责任印制:李红英

出版发行:清华大学出版社

地 址:北京清华大学学研大厦 A 座

<http://www.tup.com.cn>

邮 编:100084

社 总 机:010-62770175

邮 购:010-62786544

投稿与读者服务:010-62776969, c-service@tup.tsinghua.edu.cn

质 量 反 馈:010-62772015, zhiliang@tup.tsinghua.edu.cn

印 装 者:北京市昌平环球印刷厂

经 销:全国新华书店

开 本:185×260 插 页:4 印 张:7.75 字 数:199 千字

版 次:2009 年 3 月第 1 版 印 次:2009 年 3 月第 1 次印刷

印 数:1~3000

定 价:19.80 元

本书如存在文字不清、漏印、缺页、倒页、脱页等印装质量问题,请与清华大学出版社出版部联系调换。联系电话:(010)62770177 转 3103 产品编号:024821-01



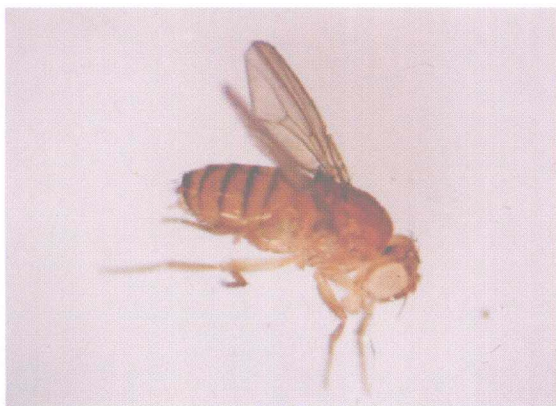
彩图 17-1 果蝇卵



彩图 17-2 果蝇幼虫



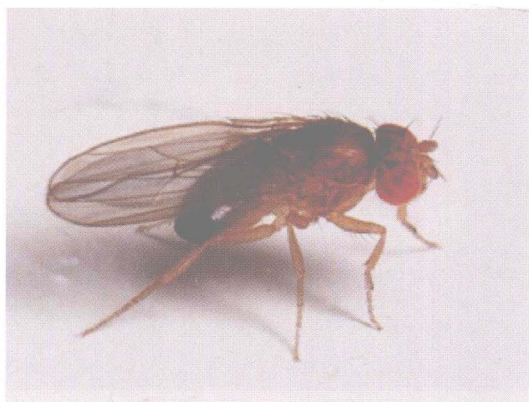
彩图 17-3 果蝇蛹



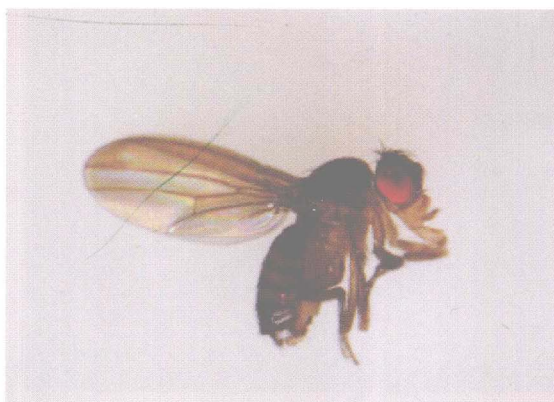
彩图 17-4 野生果蝇(雄)
示果蝇第一跗节上的性梳



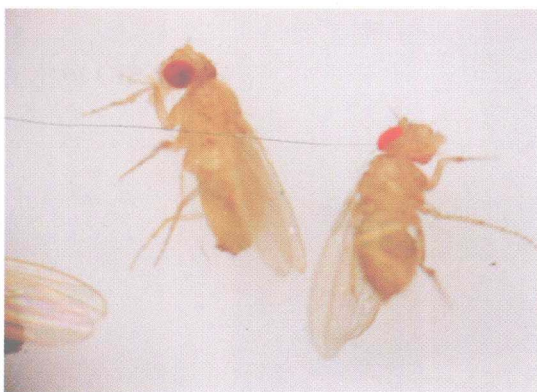
彩图 17-5 白眼突变型果蝇



彩图 17-6 棒眼突变型果蝇



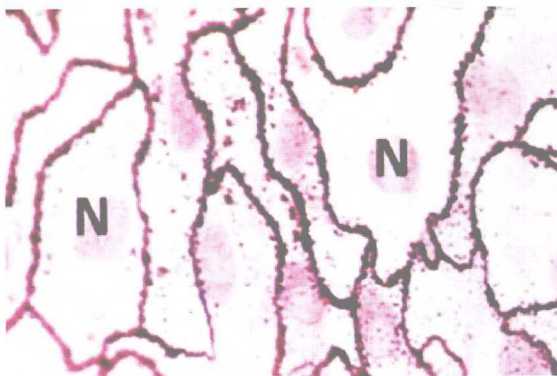
彩图 17-7 黑身突变型果蝇



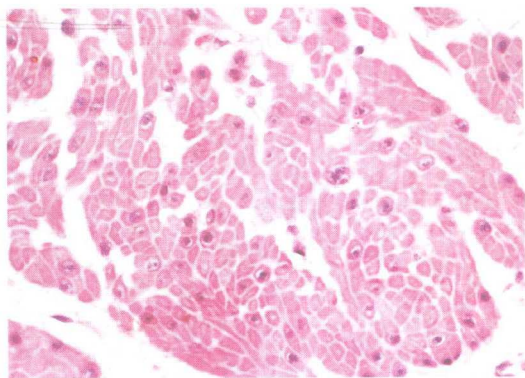
彩图 17-8 黄体突变型果蝇



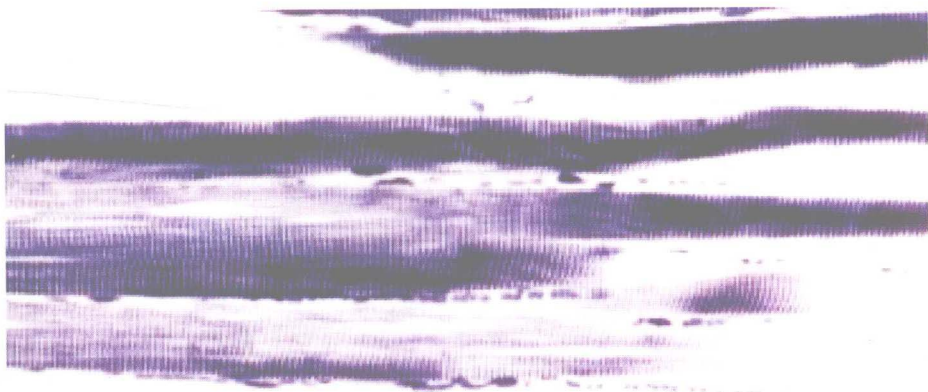
彩图 17-9 残翅突变型果蝇



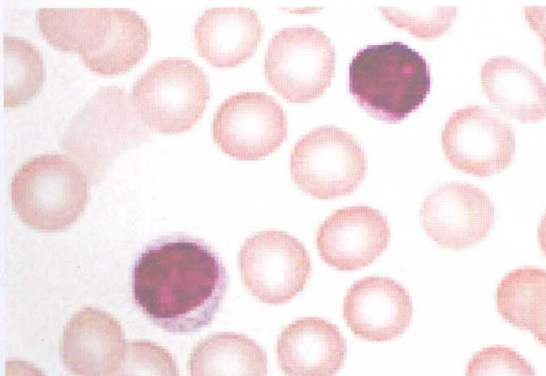
彩图 2-1 单层扁平上皮细胞



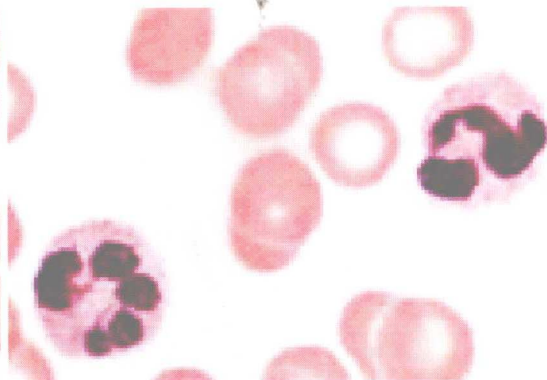
彩图 2-2 平滑肌细胞



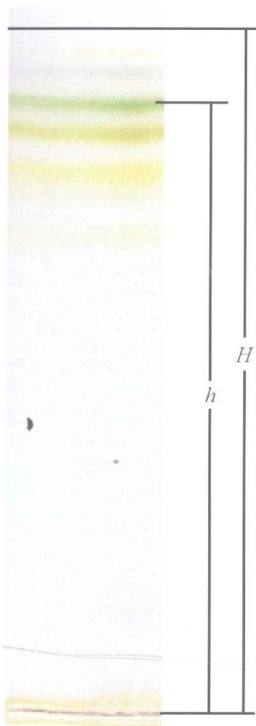
彩图 2-3 骨骼肌纵切



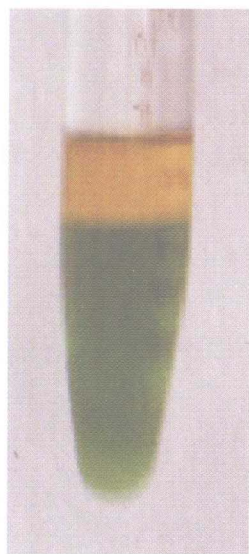
彩图 2-4 嗜中性粒细胞(人血涂片)



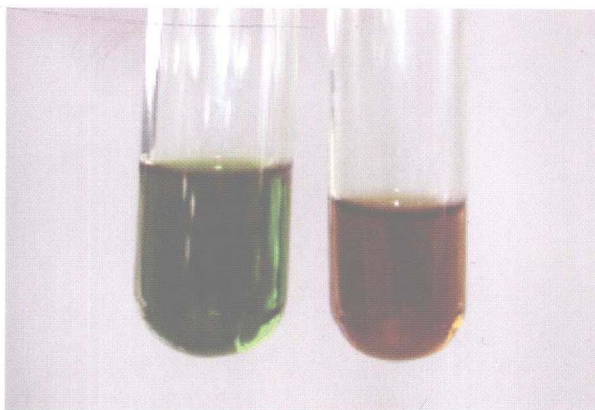
彩图 2-5 淋巴细胞(人血涂片)



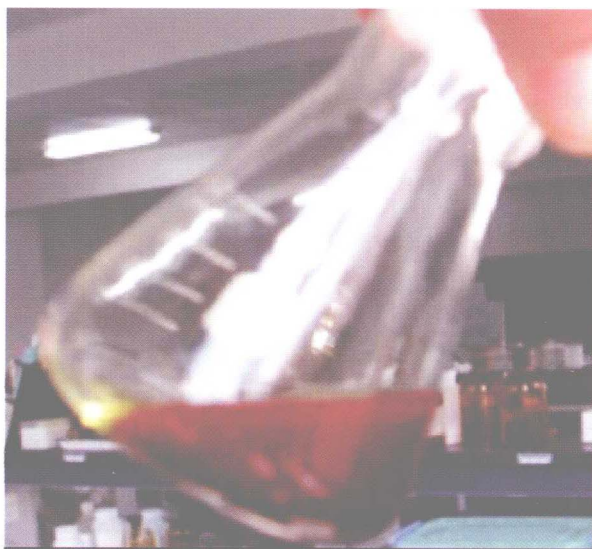
彩图4-1 叶绿体色素的薄层层析色谱



彩图4-4 叶绿体色素的皂化作用



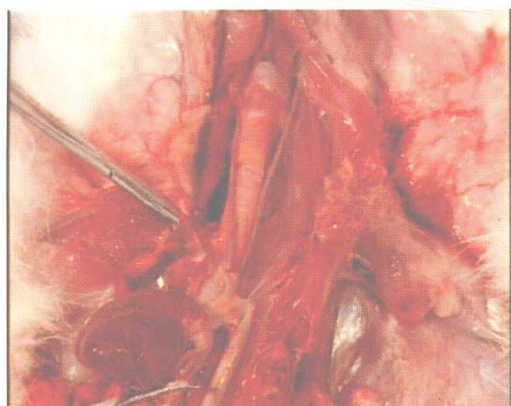
彩图4-5 叶绿体色素的置换反应



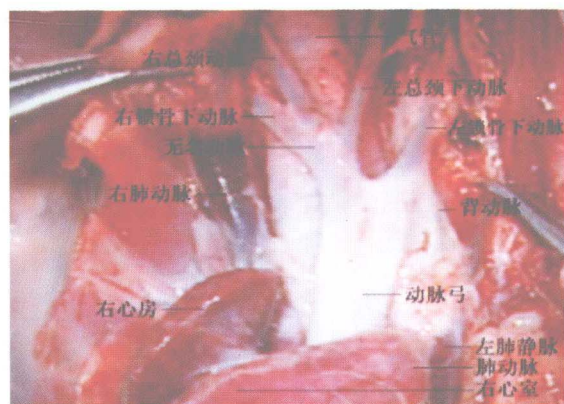
彩图4-6 叶绿体色素的荧光现象



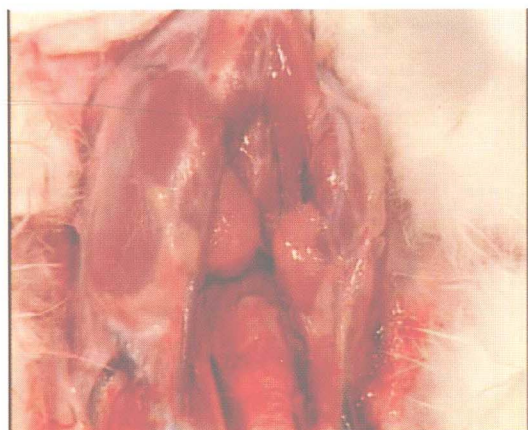
彩图7-1 空气栓塞法



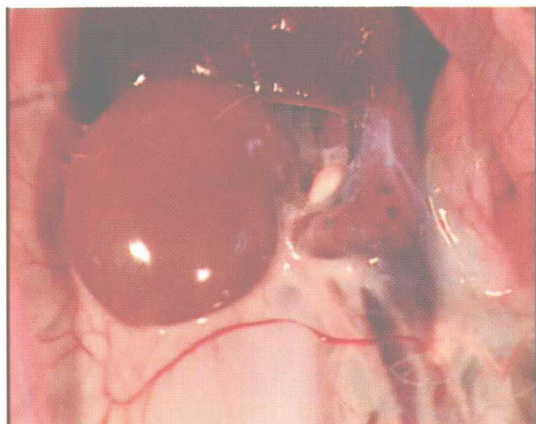
彩图7-2 家兔的循环系统(部分)



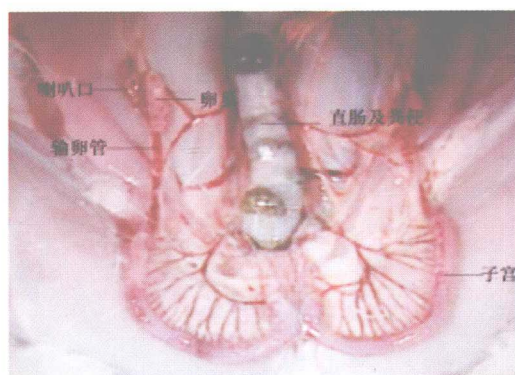
彩图7-3 家兔动脉弓上的四个分支



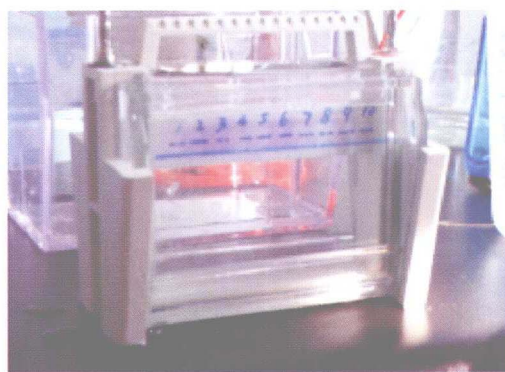
彩图7-5 家兔的颌下腺和气管(部分)



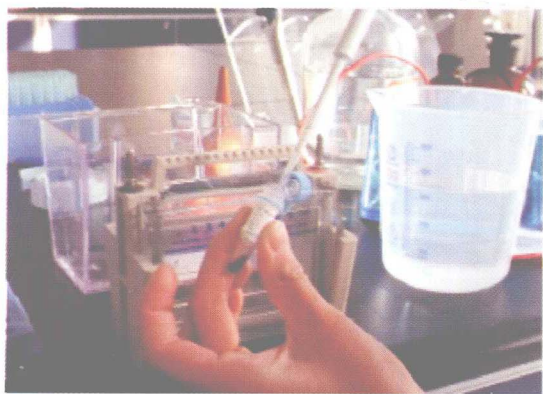
彩图7-6 家兔的肾和肾上腺



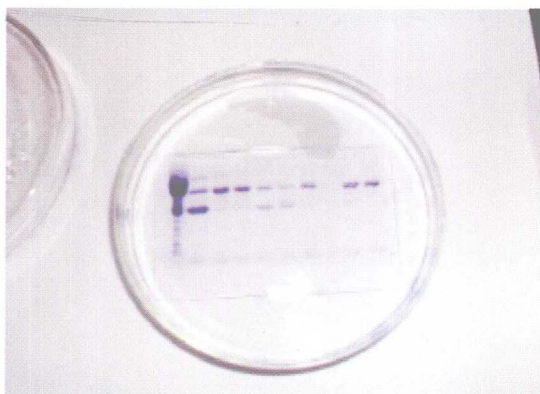
彩图7-7 雌兔的生殖系统



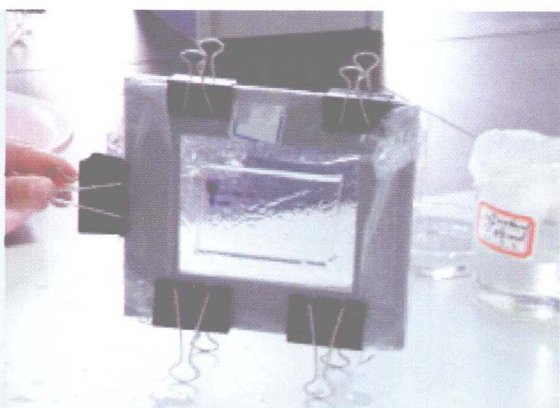
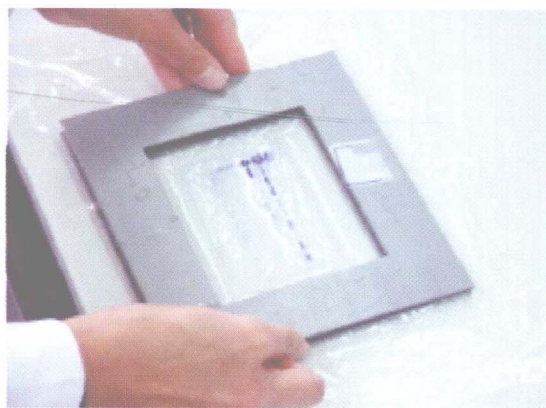
彩图9-1 电泳装置



彩图 9-2 SDS 聚丙烯酰胺电泳蛋
白质样品加样示范



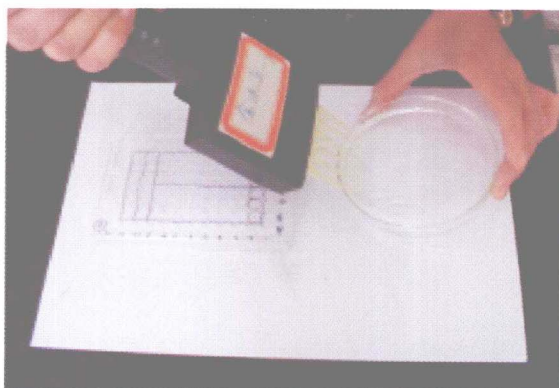
彩图 9-3 SDS 聚丙烯酰胺
电泳脱色效果图



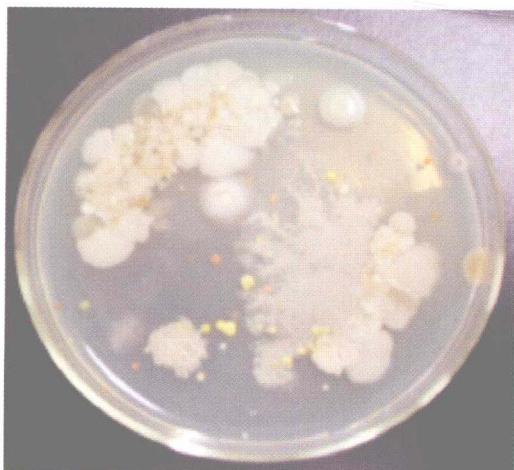
彩图 9-4 SDS 聚丙烯酰胺电泳干胶操作



彩图 10-5 酶联免疫检测仪



彩图 10-6 ELISA 的操作



彩图 11-1 检测空气中的微生物



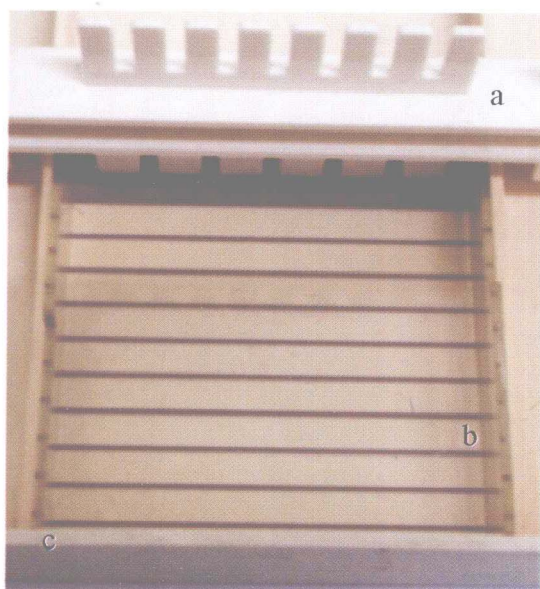
彩图 11-2 检测土壤中的细菌



彩图 12-1 制好的啤酒

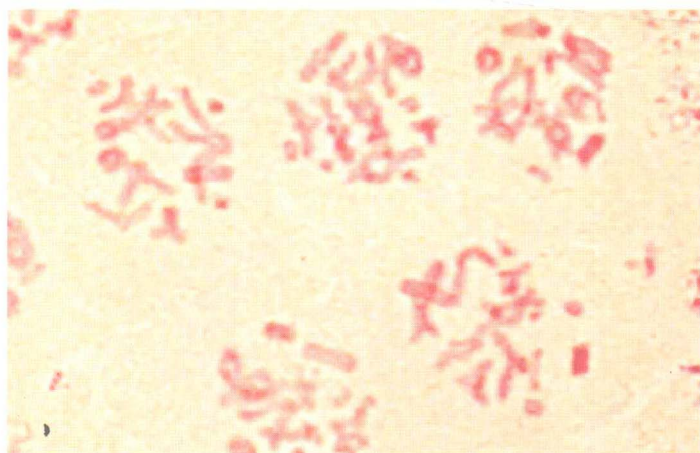


彩图 12-2 制好的酸奶



彩图 15-2 制胶工具

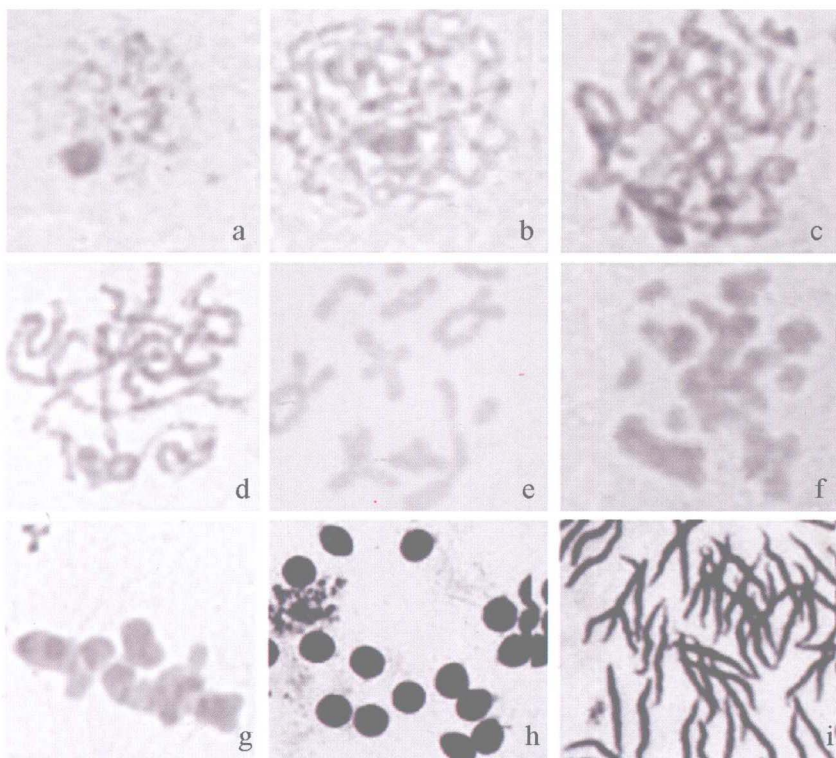
- a 样品梳
- b 有机玻璃内槽
- c 制胶模具



彩图 16-1 蝗虫精巢
减数分裂——示双线期



彩图 16-2 蝗虫精巢
减数分裂——示中期 I



彩图 16-3 蝗虫
精巢减数分裂
a 间期细胞
b 细线期
c 偶线期
d 粗线期
e 双线期
f 终变期
g 中期 I
h 精细胞
i 精子

生物学是一门实验性很强的学科。同学们在理论课堂上学到的基础知识往往需要通过实验技术进一步的巩固、加深和验证;另一方面,实验技术又进一步促进了同学们对基础理论的理解。21 世纪的大学教育提出了加强大学生素质教育的问题,而当代大学生素质培养重要的一环是加大应用技能的培养,它包括动手能力以及观察问题、分析问题和解决问题能力的培养。清华大学为进一步加强学生宏观通识、领悟科学的能力,率先在全校范围内开设了现代生物学导论实验课程选修课,得到社会和同学们的高度认同,并在 1999 年 10 月编写出版了《现代生物学导论实验指导》,开创了国内现代生物学导论实验教材的先河。在此基础上,根据近几年实际教学情况,我们重新组织有关教师编写了这本《基础生命科学实验指导》。本教材的特点之一是涵盖生物学中普通生物学、微生物学、细胞生物学、生物化学、分子生物学和遗传学六门实验课程;特点之二是实验内容的选取不求面面俱到,但是力图体现该专业的特点和精华;特点之三是增加了生物实验常用试剂的配制和一些常用的生物物理化学参数,使本教材又可以用作生物实验的工具书;特点之四是采取彩色插图,使本书更加实用和好用。

本书共编入了 17 个重要的具有代表性的实验项目。普通生物学实验部分选取了显微镜的结构和使用方法实验,叶绿体色素的提取分离、理化性质和含量测定实验和家兔的解剖实验;微生物学实验部分选取了环境中微生物的检测和分离纯化实验,固定化酵母细胞发酵啤酒实验与酸奶制作实验及微生物的大小测定与显微计数实验;细胞生物学实验部分选取了细胞显微及亚显微形态的观察实验,小鼠腹腔巨噬细胞的原代培养,花药离体培养及生活力的测定和鸡红细胞融合实验;生物化学实验部分选取了蛋白质含量测定法实验,蛋白质聚丙烯酰胺凝胶电泳实验和酶联免疫吸附测定实验;分子生物学实验包括质粒 DNA 的制备和定量分析实验,羟自由基诱导的 DNA 断裂损伤检测实验;遗传学实验包括蝗虫精巢减数分裂观察实验,果蝇的伴性遗传实验。

由于我们的经验和水平有限,教材中难免存在一些问题和疏漏,真诚地希望读者给予批评指正,我们将不胜感激。

编 者

2008 年 5 月于清华园

实验一	显微镜的结构和使用方法	1
实验二	细胞显微及亚显微形态的观察	7
实验三	小鼠腹腔巨噬细胞的原代培养	9
实验四	叶绿体色素的提取分离、理化性质和含量测定	12
	I 提取与分离	12
	II 理化性质	14
	III 叶绿素含量测定	16
实验五	花药离体培养及生活力的测定	19
实验六	鸡红细胞融合实验	22
实验七	家兔的解剖	24
实验八	蛋白质含量测定法	29
实验九	蛋白质聚丙烯酰胺凝胶电泳	34
实验十	酶联免疫吸附测定	39
实验十一	环境中微生物的检测和分离纯化	45
实验十二	固定化酵母细胞发酵啤酒实验与酸奶制作	48
实验十三	微生物的大小测定与显微计数	52
实验十四	质粒 DNA 的制备和定量分析	58
实验十五	羟自由基诱导的 DNA 断裂损伤检测	61
实验十六	蝗虫精巢减数分裂观察	65
实验十七	果蝇的伴性遗传实验	68
附录 1	常用培养基的配制	71
附录 2	染色液的配制	80
附录 3	实验室常用试剂的配制	82
附录 4	一些常用的物理、化学和生物参数	90
附录 5	实验室常用消毒剂和干燥剂表	106
附录 6	基础生物实验室常用仪器介绍	108
附录 7	部分国家的菌种保藏机构名称及网址信息	114
参考文献		118

实验一 显微镜的结构和使用方法

一、实验目的

1. 了解一般光学显微镜的基本构造及其功能。
2. 掌握光学显微镜的使用方法。

二、实验材料与试剂

1. 尼康 YS100 型显微镜。
2. 永久装片、擦镜纸、镜油、蒸馏水、擦镜液。

显微镜是一种精密的光学仪器,是观察、研究和记录组织形态、细胞结构的重要工具之一。

显微镜的种类很多,基本上分为光学显微镜和电子显微镜两大类。在光学显微镜中,根据其照明技术可分为明视野显微镜、暗视野显微镜和荧光显微镜等。根据其成像技术可分为相差显微镜、干涉显微镜、微分干涉反差显微镜和偏光显微镜等。根据显微镜的镜体构造亦可分为倒置显微镜、实体显微镜。近年来又研制出激光扫描显微镜、数码显微镜等。此外,还有紫外光显微镜、红外显微镜和 X 射线显微镜等具特殊不可见光源的显微镜。

电子显微镜是观察细胞和生物大分子微观形态的工具,它的最大分辨率已达到 $1\text{\AA}$ (10^{-10}m)。近年来,电镜的研制开发发展很快,根据其功能的不同,又可分为扫描电镜、透射电镜、高压电镜、隧道电镜等。

在生物教学中,应用最广泛的是一般光学显微镜,下面仅以尼康 YS100 型双目生物显微镜为例,介绍一般光学显微镜的结构和使用方法。

三、显微镜的结构

一般光学显微镜的结构包括两大部分:机械部分和光学部分。

1. 机械部分

用于装置及调节光学部分。包括以下结构(见图 1-1):

- (1) 屈光度调节环:通过调节屈光度来补偿左右眼的视力差,使双目同焦。
- (2) 物镜转换器:可容纳 4 个物镜($4\times$, $10\times$, $40\times$, $100\times$),转动物镜转换器可选择物镜。
- (3) 标本夹:固定标本玻片。
- (4) 放大倍数指示圈:指示聚光器光圈的大小。
- (5) 聚光器孔径光阑调节杆:操作时使调节杆与物镜的放大倍数相一致。
- (6) 蓝滤色片和滤色片固定盘。

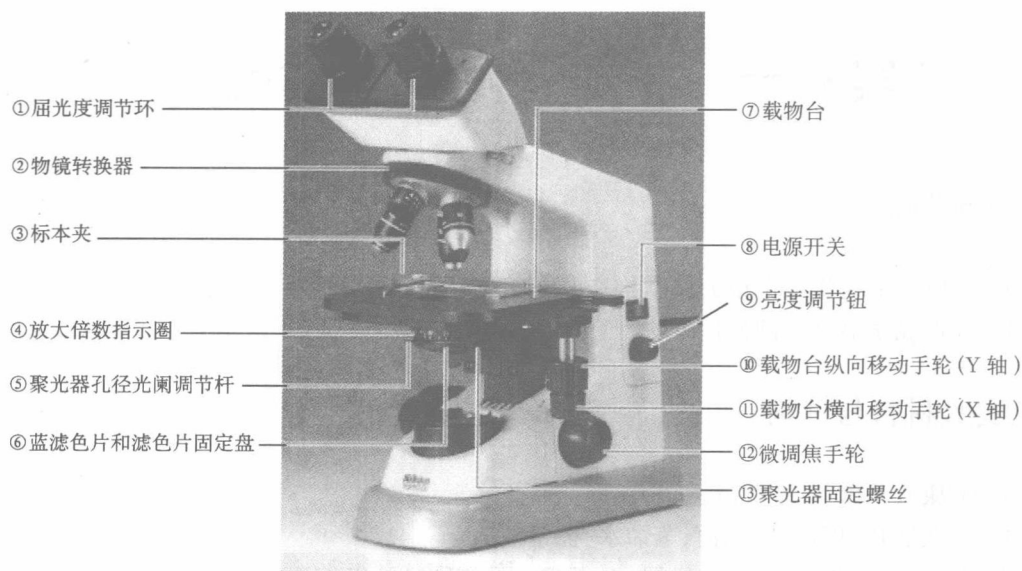


图 1-1 YS100 型显微镜机械部分结构

(7) 载物台：用于放置标本玻片，中央有一镜台孔，台上有标本夹。台下右后侧有载物台移动手轮，可以前、后、左、右移动标本玻片，且移动距离可由标尺显示。

(8) 电源开关：打开(I)、关闭(O)显微镜电源。

(9) 亮度调节钮：顺时针转动视场变亮，逆时针转动视场变暗。

(10) 载物台纵向移动手轮(Y 轴)。

(11) 载物台横向移动手轮(X 轴)。

(12) 微调焦手轮：镜臂下方两侧都有，可使载物台做微小升降，用于精细地调节焦距，使物像清晰；在镜臂下方左侧有粗调焦手轮，可使载物台做较大幅度升降，低倍镜时可使用粗调焦手轮迅速找到物像。

(13) 聚光器固定螺丝：固定聚光器。

2. 光学部分

光学部分包括成像的光学系统(目镜、物镜)和照明的光学系统(聚光器、光源等)(见图 1-2)。

(1) 主体。

(2) 目镜：一般光学显微镜均有 2~3 对放大率不同的目镜，上面分别标有各自的放大倍数，如 10×，根据观察要求，可更换不同目镜。

(3) 目镜筒：用于固定目镜筒使其上倾 45°，其上的视距滑板，可调节两目镜间的距离，使其与观察者瞳距对应，观察时得到大而明亮的视野。

(4) 物镜：一般光学显微镜均有 3~4 个不同放大率的物镜，最常用的有 4×、10×(低倍镜)、40×(高倍镜)和 100×(油镜)。

观察时实际计算放大倍数是以目镜放大倍数乘以物镜放大倍数得到的，如目镜放大倍数为 10 倍，物镜放大倍数为 40 倍，此时实际观察到的放大倍数就是 10×40 倍，即 400 倍，记作 400×。

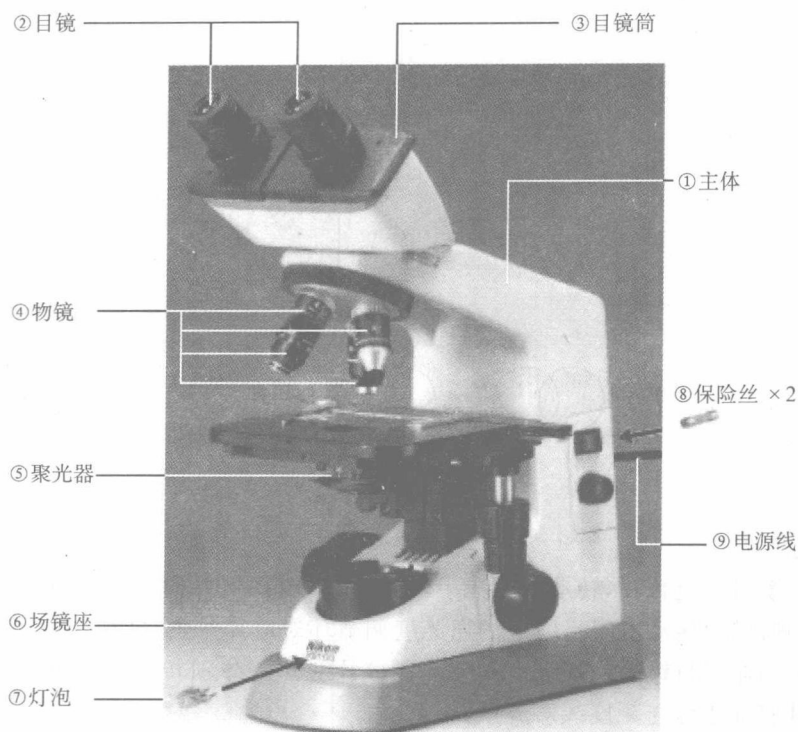


图 1-2 YS100 型显微镜光学部分的结构

(5) 聚光器：位于载物台下，由一到数块透镜组成，用于聚光。在聚光器的左侧有聚光器垂直运动手柄，调节可使聚光器升降，控制光亮度及均匀度。聚光器有孔径光阑，孔径光阑由一套金属薄片组成，通过拨动孔径光阑调节杆来改变孔径光阑的大小。如果孔径光阑缩小，亮度和分辨率将会降低，而反差与景深则会增加。相反，如果开大孔径光阑，亮度和分辨率将会增加，而反差和景深则会降低。因此，不宜用它来调节光亮度。

(6) 场镜座。

(7) 灯泡。

(8) 保险丝。

(9) 电源线。

四、显微镜的操作方法

1. 取放显微镜要点

取放显微镜时，需右手握住镜臂，左手平托镜座，保持镜体直立。放置在桌上时，动作要轻，一般放在座位的偏左侧，距桌边 5~6cm 处。

2. 灯泡照明

打开电源开关，旋转亮度调节钮调节视场的明亮度。

3. 瞳距调节

调节目镜筒的间距，使其与你两眼间的瞳距一致，这样可使左右目镜中的两个视场重叠。

合一(图 1-3)。

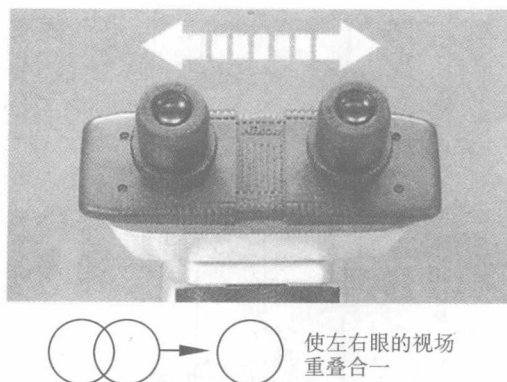


图 1-3 瞳距调节

4. 屈光度调节

将 40 倍镜对准镜台孔,转动粗调焦手轮对标本进行对焦;换成 10 倍镜对准镜台孔,单用右眼看右侧目镜,转动右眼目镜上的屈光度调节环对玻片对焦。用同样方法,但用左眼看左侧目镜,转动左眼目镜上的屈光度调节环对玻片对焦。分别转动左右目镜筒上的屈光度调节环,使其底部边缘与刻度线对齐(图 1-4)。

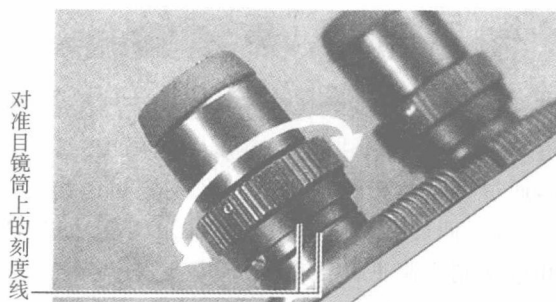


图 1-4 屈光度调节

5. 安放标本玻片

将标本夹的弹片拨开,把标本玻片放在载物台上夹好,盖玻片的一面向上(图 1-5)。

6. 用 10 倍物镜观察

- (1) 旋转物镜转换器,将 10 倍物镜对准载物台中央的镜台孔。
- (2) 旋转左侧的粗调焦手轮,将载物台上升至最高点。
- (3) 通过目镜观察,慢慢旋转粗调焦手轮,使载物台下降,直到在视野中看到标本。
- (4) 旋转微调焦手轮,精确对焦。

当用高倍镜进行观察时,首先用 10 倍物镜或 4 倍物镜对焦。然后再更换高倍镜,旋转微调焦手轮精确对焦。

7. 聚光器垂直位置调节

调节聚光器垂直移动手柄将聚光器升到最上端,然后稍微下降一点,如果视场背景有散