

国家级实验教学示范中心

基础医学实验教学系列教材

第3版

医学细胞 分子生物学实验

主编 苑辉卿 刘奇迹

非外借



科学出版社

国家级实验教学示范中心
基础医学实验教学系列教材

医学细胞分子生物学 实验

第3版

主 编 苑辉卿 刘奇迹
副主编 田克立 李 霞 胡晓燕 孙金鹏
编 者 (按姓氏笔画排序)
于清水 王 伟 王晓静 卢 翌
田克立 任桂杰 刘永青 刘志方
刘奇迹 孙金鹏 李 霞 李 曦
肖 鹏 吴伟芳 张莲英 陈丙玺
陈蔚文 苑辉卿 郝建荣 胡晓燕
徐 霞

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本教材采取“虚实结合”的方式,系统介绍研究生物分子和细胞所需要的基本实验技术和方法、综合分析问题的思路,并设计开放式问题引导学生对生命问题进行科学探索的意识。教材以实践操作内容为主线,涵盖医学细胞生物学、生物化学、分子生物学以及遗传学的基本知识,通过对某一问题的验证分析,介绍研究的基本方法、技术以及常用仪器设备的使用等,并增加了彩图照片、实验操作的视频资料和虚拟实验的内容。另外,本教材继续保持第二版的特点,设置综合实验和开放式实验设计,使学生能灵活运用不同学科的基本实验方法进行探讨,避免知识的碎片化。同时通过表达绿色荧光蛋白,对分子生物学的内容进行更新。作为融合性较强的实验教材中,将相关学科的实验内容通过文字、视频资料以及信息平台综合呈现出来,适合当前如PBL、慕课等医学改革模式,是实用性和先进性并存的教学用书。

图书在版编目(CIP)数据

医学细胞分子生物学实验 / 苑辉卿, 刘奇迹主编. —3 版. —北京: 科学出版社, 2018.6

基础医学实验教学系列教材

ISBN 978-7-03-058026-9

I. ①医… II. ①苑… ②刘… III. ①人体细胞学-分子生物学-实验-医学院校-教材 IV. ①R329.2-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2018)第 131738 号

责任编辑: 张天佐 胡治国 / 责任校对: 郭瑞芝

责任印制: 张欣秀 / 封面设计: 王 融

版权所有, 违者必究。未经本社许可, 数字图书馆不得使用

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>

北京虎彩文化传播有限公司 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: 787×1092 1/16

2018 年 6 月第 三 版 印张: 16 1/2

2018 年 6 月第 九 次印刷 字数: 400 000

定价: 65.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

前 言

实验教学是医学教育的重要内容，是培养具有实践能力和创新意识的复合型人才的重要环节。本实验教材的编写设计原则是按照高层次医学人才培养目标的要求确立。

本教材遵循医学教育教学的规律，打破以学科为中心的教学模式，将细胞生物学、医学生物化学与分子生物学及医学遗传学三个学科的实验教学内容进行融合，组成医学细胞分子生物学实验教材，其编写原则是按照高层次医学人才培养要求，围绕研究分子、细胞和生命的基本问题所需要的基础实践技能、综合分析能力和探索创新意识设计实验教学内容。教材采取分层次、循序渐进、虚实结合的方式进行编写，即以实验方法为主要内容的基本技能训练实验、以问题为导向的融合实验、以探索为目的的创新实验，形成了涵盖上述学科的整合教材，完成“基本技能、综合分析、临床应用”的实践教学。本教材包括三篇，第一篇为基础实验，分为四章，第一章为医学细胞生物学基本实验，第二章为医学生物化学基本实验，第三章为医学分子生物学基本实验，第四章为医学遗传学基本实验，分别从细胞形态、细胞功能、生物化学、分子生物学、遗传学的基本技能角度，培养学生基本的实验操作能力。本部分实验内容注重先进性与实用性，紧扣目前该领域的发展趋势及临床检验的实际操作，使学生在将来能够尽快适应工作的需要。第二篇为综合实验，每个实验都融合了三个学科的相关内容，针对同一问题从不同的方面进行综合分析、验证，培养学生利用多学科知识进行综合分析、解决问题的能力。此篇实验是基于科研的研究内容和思路而设计，有助于培养学生的逻辑思维能力，形成严谨的科学态度，开阔学生的思维视角。第三篇是创新实验，为开放性实验设计，不拘泥于理论知识、实验技能，通过启发、探索式的问题，由学生根据所学知识及实验技能，开阔思路、提出实验解决方案，培养学生的独立思考、探索求真的综合能力。另外，本教材在医学分子生物学的实验内容中注重独立实验的连贯性，通过一个主线将若干独立实验前后关联，完成分子克隆到蛋白表达的全部内容。体现由基础到综合、由单个到整体的循序渐进过程，可根据学时要求、实验条件等进行组合，有利于进行分段教学。

实践教学与虚拟教学相结合是本教材的特色，本教材依托山东大学国家级医学虚拟仿真实验教学平台丰富的资源，在第二版的基础上，本版教材增加了电子信息资源，将高质量的彩色图片、实验操作视频以及虚拟仿真实验视频制作形成二维码插入教材中，通过扫描二维码即可观看图片和视频，使实验更加生动、直观，方便学生的学习。对于不易开展的实验内容，通过虚拟仿真实验为学生提供直观的操作平台，了解更多更深的专业知识和前沿进展，有利于开阔学生的视野，提高实验教学效果。

本实验教材文字简明,层次清晰,将三个学科的基本知识点融于一本教材中,便于学生和教师了解相关学科的实验内容及学科交叉点。同时文字内容和视频资料相结合、实践性内容和虚拟仿真相结合,不仅丰富了教学内容,而且方便学生使用,增加了趣味性,有利于提高教学效果、扩展学生思路。

本书适合临床医学、药学、预防医学、口腔、护理学等医学相关专业学生使用,也可供研究生参考。

编 者

2018年3月

目 录

第一篇 基础实验

第一章 医学细胞生物学基本实验	1
第一节 细胞的显微结构	1
实验一 细胞的一般形态结构观察	1
实验二 细胞的显微测量技术	6
第二节 细胞生理活动	8
实验三 胞质环流	8
实验四 细胞吞噬	9
实验五 细胞活性鉴定	11
实验六 细胞融合	12
第三节 细胞化学成分的显示	14
实验七 普通细胞化学	15
实验八 核酸细胞化学	21
实验九 酶细胞化学	25
实验十 荧光细胞化学与免疫荧光细胞化学	28
第四节 细胞增殖	34
实验十一 无丝分裂	34
实验十二 有丝分裂	35
实验十三 减数分裂	39
实验十四 X 染色质标本制备与观察	42
实验十五 早熟染色体凝集的诱导和观察	43
第五节 细胞培养	46
实验十六 原代细胞培养	47
实验十七 细胞传代培养	49
实验十八 体外培养细胞的观察方法	53
第二章 医学生物化学基本实验	59
第一节 蛋白定量分析实验	59
实验一 双缩脲法测定蛋白质含量	59
实验二 Folin-酚试剂法测定蛋白质含量	60
实验三 考马斯亮蓝法测定蛋白质含量	61
实验四 紫外分光光度法测定蛋白质含量	62
第二节 层析分离纯化实验	64
实验五 血清 γ -球蛋白的分离纯化与鉴定	64
实验六 葡聚糖凝胶分离血红蛋白和 DNP-胰糜蛋白酶混合液	67
实验七 离子交换层析分离混合氨基酸	68
第三节 电泳分析实验	69

实验八	血清蛋白质醋酸纤维素薄膜电泳	69
实验九	血浆脂蛋白琼脂糖凝胶电泳	71
实验十	聚丙烯酰胺凝胶电泳分离血清 LDH 同工酶	72
实验十一	SDS-PAGE 测定蛋白质分子量	75
实验十二	等电聚焦法测定蛋白质等电点	77
第四节	酶学实验	79
实验十三	pH 对酶促反应速度的影响	79
实验十四	温度对酶促反应速度的影响	82
实验十五	底物浓度对酶促反应速度的影响	83
实验十六	抑制剂对酶促反应速度的影响	85
实验十七	酶的提取及比活性测定	87
第五节	物质代谢实验	92
实验十八	胰岛素对血糖含量的影响	92
实验十九	邻甲苯胺法测血糖含量	92
实验二十	糖酵解中间产物的鉴定	93
实验二十一	血清中谷丙转氨酶活性的测定	95
实验二十二	血清脂类含量分析	97
第三章	医学分子生物学基本实验	100
第一节	基因克隆实验	100
实验一	质粒 DNA 的限制性酶切反应	101
实验二	琼脂糖凝胶电泳分离鉴定酶切的线性 DNA 片段	104
实验三	DNA 酶切片段的回收	107
实验四	DNA 片段的体外连接	109
实验五	大肠杆菌感受态细胞的制备	111
实验六	重组 DNA 的转化及阳性克隆的初步筛选	112
实验七	阳性重组子的鉴定	114
实验八	碱裂解法质粒 DNA 的小量制备	115
实验九	质粒 DNA 浓度和纯度的测定	117
第二节	外源基因 GFP 在原核细胞中的诱导表达和纯化	117
实验十	外源基因在大肠杆菌的诱导表达和提取	118
实验十一	亲和层析法纯化重组蛋白	119
实验十二	SDS-PAGE 鉴定重组蛋白质	119
第三节	PCR 技术	121
实验十三	PCR 扩增目的基因	123
实验十四	总 RNA 提取及 RT-PCR 扩增目的基因	124
实验十五	实时定量 PCR 分析真核基因的表达	128
第四章	医学遗传学基本实验	130
第一节	细胞遗传学实验	130
实验一	人类外周血淋巴细胞培养	130
实验二	人类外周血淋巴细胞染色体的制备	131
实验三	人类染色体 G 显带	133
实验四	人类 G 显带染色体核型分析	134
实验五	姐妹染色单体交换 (SCE) 标本的制备与观察	136
第二节	分子遗传学实验	138

实验六 短串联重复序列 (STR) 的多态性分析	138
实验七 限制性片段长度多态 (RFLP) 分析	143
实验八 单链构象多态性 (SSCP) 的检测	145
第三节 人类遗传性状分析	148
实验九 遗传性状基因型与表型分析	148
实验十 遗传病的家系分析和再发风险估计	151
第二篇 综合实验	
第五章 细胞增殖活力分析	153
第一节 细胞增殖的定量分析	153
实验一 细胞琥珀酸脱氢酶活性检测 (MTT 法)	153
实验二 细胞周期的检测	154
第二节 细胞内 ATP 含量测定	155
实验三 人淋巴细胞 ATP 活力检测	155
第三节 细胞增殖的染色分析	156
实验四 BrdU 染色法检测细胞增殖	156
实验五 Ki-67 免疫染色法检测细胞增殖	157
第六章 细胞凋亡的诱导与检测	160
第一节 细胞凋亡的诱导与形态结构观察	160
实验一 培养细胞的凋亡诱导	161
实验二 锥虫蓝染色检测凋亡细胞	162
实验三 苏木精-伊红染色检测凋亡细胞	163
实验四 Giemsa 染色检测凋亡细胞	164
实验五 吖啶橙荧光染色检测凋亡细胞	165
实验六 Ho.33342 与 PI 荧光双染检测凋亡细胞	165
第二节 凋亡细胞的超微结构观察	167
实验七 透射电镜观察凋亡细胞	167
实验八 扫描电镜观察凋亡细胞	168
第三节 凋亡细胞的定量分析	169
实验九 流式细胞术检测凋亡细胞	169
第四节 细胞凋亡的分子生物学特征	171
实验十 凋亡细胞 DNA ladder 检测	172
实验十一 Caspase 3 酶活性测定	172
实验十二 凋亡相关蛋白表达水平检测	173
实验十三 凋亡相关基因转录水平的表达检测	174
第七章 细胞自噬与相关分析	178
第一节 细胞自噬的形态学分析	178
实验一 透射电镜观察自噬体的形成	179
实验二 GFP-LC3 自噬斑点的荧光显微镜检测	180
第二节 自噬标志蛋白的表达分析	181

实验三 蛋白质印迹法检测自噬标志蛋白的变化	181
第八章 真核生物基因表达调控分析	183
实验一 甲基化特异性 PCR (MSP) 检测基因启动子甲基化	183
实验二 荧光素酶报告基因瞬时转染分析启动子活性	186
第九章 四氯化碳致培养肝细胞损伤的分析	193
第一节 培养肝细胞损伤模型的诱导与形态学分析	193
实验一 肝细胞损伤的诱导及常规形态检查	193
实验二 损伤细胞的脂肪变性检测	194
第二节 肝细胞损伤的定量分析	195
实验三 CCK 法检测细胞存活率	196
第三节 损伤肝细胞相关酶的分析	197
实验四 肝损伤细胞乳酸脱氢酶活性检测	198
实验五 肝损伤细胞谷丙转氨酶活性检测	199
实验六 肝细胞中 PPAR γ 1 表达水平的检测	201
第十章 人遗传性状基因的分子诊断与应用	201
实验一 Duchenne 型肌营养不良的基因诊断	201
实验二 多重 RT-PCR 检测染色体易位	202
实验三 利用短串联重复序列进行亲权鉴定	205

第三篇 创新实验

实验一 糖尿病的生化及遗传检测分析实验	207
实验二 唐氏综合征的产前诊断方法	208
实验三 家族性高胆固醇血症的诊断方法	208
实验四 血友病的诊断	210
实验五 重组人促红细胞生成素在细胞中的表达、分离和纯化	210
实验六 p53 基因与肿瘤相关性实验设计	211
实验七 小鼠组织细胞形态及功能分析	212
实验八 小鼠组织特种细胞的形态及特征性成分的鉴定	212

附 录

附录一 实验室规则	213
附录二 实验室安全及防护	213
附录三 实验室常用玻璃仪器的洗涤与清洁	214
附录四 生物绘图的要求与方法	217
附录五 生物学实验设计报告	218
附录六 常用实验技术原理	218

第一篇 基础实验

第一章 医学细胞生物学基本实验

第一节 细胞的显微结构

细胞是生命活动的基本结构单位和功能单位。人和动物细胞的直径一般为 $10\sim 30\mu\text{m}$ ，而人眼的最大分辨率是 $100\mu\text{m}$ ，所以人的眼睛是看不到这些细胞的。而光学显微镜的分辨率为 $0.2\mu\text{m}$ ，电子显微镜的分辨率是 0.2nm ，因此要观察细胞或其内部结构，需要借助光学显微镜和电子显微镜。通常把在光学显微镜下观察到的细胞的结构称为显微结构，电子显微镜下观察到的结构称为超微结构或亚显微结构。

实验一 细胞的一般形态结构观察

【实验目的】

1. 掌握光镜下细胞和细胞器的形态结构。
2. 掌握临时制片的方法。
3. 掌握生物绘图的方法。

【实验原理】 动物有机体的细胞大小有差异，形态也多种多样，有圆形、柱形、扁平形、梭形、成纤维形、不规则形等，各种形态与其功能状态相适应。虽然各种类型细胞形状和大小不一，但都具有共同的基本结构特点：都是由细胞膜、细胞质及细胞核组成，而细胞质中包含有线粒体、高尔基复合体、中心体、细胞骨架等细胞器成分。本实验用光学显微镜观察不同类型的细胞及几种细胞器的形态结构及分布。

【实验内容与方法】

一、细胞的一般形态结构观察

1. 蝾螈表皮细胞

(1) 标本制备：取约 5mm^2 新鲜脱落的蝾螈表皮小片， 10% 甲醛固定 4h，蒸馏水漂洗后苏木精-伊红染色（又称 H-F 染色），脱水、透明后树胶封片。

(2) 观察：低倍光学显微镜下找到标本后，换高倍镜调焦至图像清晰，可见细胞边界的颜色较浅，细胞核紫红色、圆形，位于细胞中央，核内可见有 $1\sim 3$ 个圆形深紫红色核仁，细胞核内除核仁外还有不均一的紫红色染色质（图 1-1）。

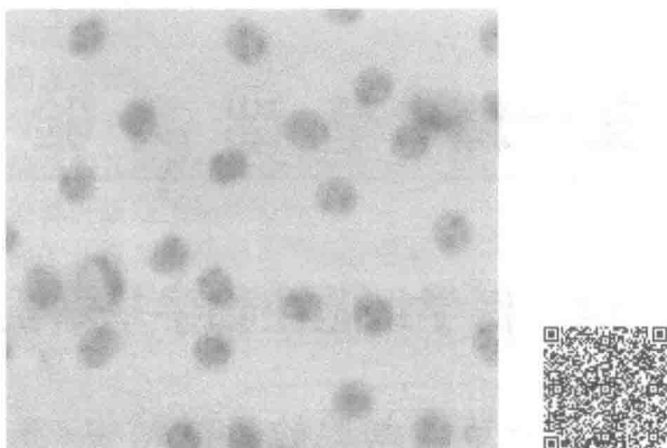


图 1-1 蝾螈表皮细胞镜下图 (×200)

【图片资料】请扫描图 1-1 右下方的二维码, 观看光镜下蝾螈表皮细胞形态。

2. 蝾螈小肠柱状细胞

(1) 标本制备: 蝾螈小肠石蜡横切片, H-E 染色。

(2) 观察: 低倍光学显微镜下观察可见蝾螈小肠上皮细胞为柱状, 排列整齐, 高倍镜下可见柱状细胞间有清晰的界限, 细胞顶端游离面有纹状缘, 核圆形, 位于细胞基底部, 为紫红色 (图 1-2)。

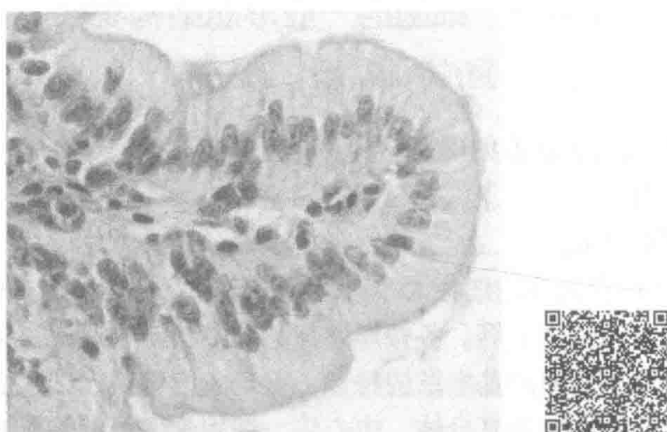


图 1-2 蝾螈小肠柱状细胞镜下图 (×200)

【图片资料】请扫描图 1-2 右下方的二维码, 观看光镜下蝾螈小肠柱状细胞形态。

3. 神经细胞

(1) 标本制备: 原代培养新生鼠脊髓神经细胞, H-E 染色。

(2) 观察: 油镜下可见许多有突起的脊髓神经细胞, 胞体染成红色, 形态多样, 突起长短不一 (双极神经细胞多为枣核形, 三极神经细胞多为三角形), 细胞核大而圆, 染成蓝紫色 (图 1-3)。

4. 血细胞

(1) 人血细胞制备: 取耳垂血一滴, 制备血涂片, 瑞氏 (Wright) 染色。

(2) 观察: 油镜下, 红细胞圆形, 粉红色, 呈圆盘状, 中央略薄, 着色浅, 四周略厚, 无核, 数量多。白细胞核明显, 核形态多样, 有分叶核、肾形核或圆形核 (图 1-4)。

5. 小鼠精细胞

(1) 标本制备: 取成年雄性小鼠睾丸, 剪碎, 用 2.2% 的柠檬酸钠制成精子悬液, 推片, 晾干后 Giemsa 染色。

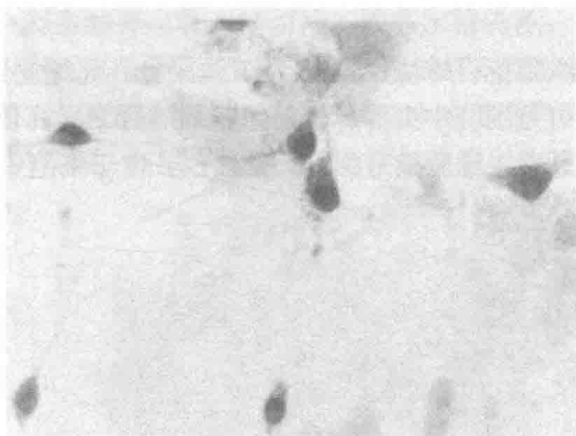


图 1-3 新生鼠脊髓神经细胞镜下图 ($\times 400$)

【图片资料】请扫描图 1-3 右下方的二维码，观看光镜下新生鼠脊髓神经细胞形态。

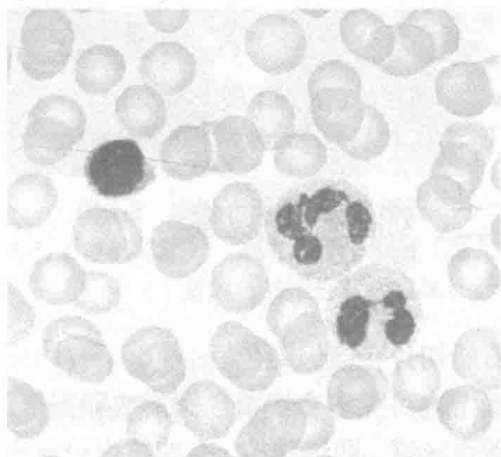


图 1-4 人血液涂片镜下图 ($\times 600$)

【图片资料】请扫描图 1-4 右下方的二维码，观看光镜下人血细胞形态。

(2) 观察：低倍镜下可见视野中有多个染成紫红色的蝌蚪样的精子，转换高倍镜，可见精子头部呈镰刀状，颜色深染，紫红色。尾部为一条细长的鞭毛（图 1-5）。



图 1-5 小鼠精细胞镜下图 ($\times 600$)

【图片资料】请扫描图 1-5 右下方的二维码，观看光镜下小鼠精细胞形态。

6. 小鼠肝细胞

(1) 标本制备：小鼠肝组织制备石蜡切片，Feulgen 法染色，亮绿复染细胞质。

(2) 观察：低倍镜下观察可见围绕中央静脉辐射状排列的肝索。高倍镜下肝细胞为多边形，染成红色，整齐排列成肝索，细胞核呈圆形，紫红色，位于细胞中央（图 1-6）。

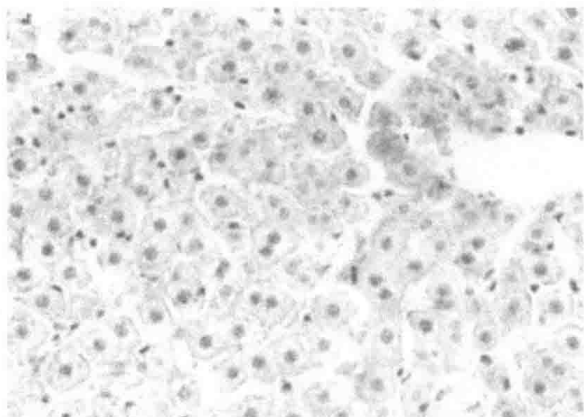


图 1-6 小鼠肝组织切片镜下图（×400）

【图片资料】请扫描图 1-6 右下方的二维码，观看光镜下小鼠肝组织细胞的形态结构。

二、细胞器的观察

1. 高尔基复合体

(1) 标本制备：兔脊神经节石蜡切片，镀银染色。

(2) 观察：低倍镜下，在神经节内可见多个浅黄色圆形或卵圆形的神经节细胞。高倍镜下观察可见细胞中央有圆形不着色区域，即细胞核。有的核内可见有染成浅黄色的核仁。在核周围的细胞质中高尔基体被染成棕褐色，呈斑块状或扭曲的条索状结构（图 1-7）。

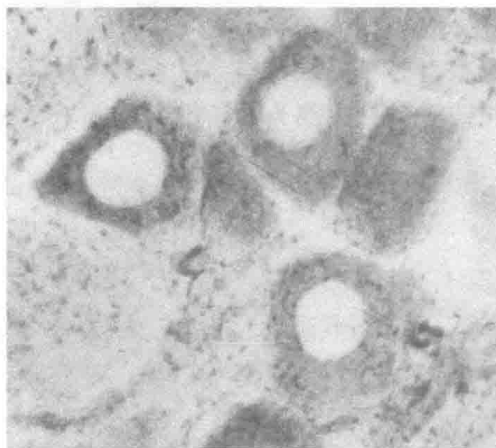


图 1-7 兔脊神经节细胞镜下图（×400）

【图片资料】请扫描图 1-7 右下方的二维码，观看光镜下兔脊神经节细胞形态。注意观察细胞核形态及核周细胞质中染成棕褐色的高尔基体，呈斑块状或扭曲的条索状结构。

2. 线粒体

(1) 方法一：永久制片。

1) 标本制作: 制备蛙肾小管石蜡切片, 铁苏木精染色。

2) 观察: 肾小管在低倍镜下呈圆形、椭圆形的环形管状结构。管壁是由单层锥形细胞构成, 中央有管腔。换高倍镜和油镜观察, 细胞中央不着色的圆形区是细胞核, 内有一个或多个染成深蓝色的核仁。细胞界线不清晰。在细胞质里有很多染成蓝黑色的短杆状结构, 即线粒体(图 1-8)。

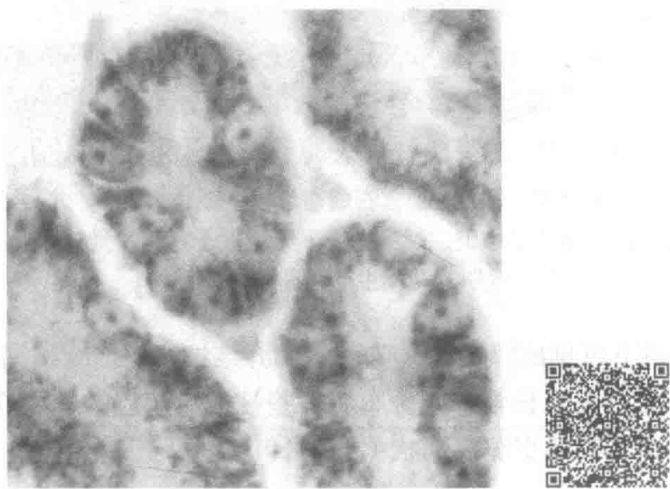


图 1-8 蛙肾小管石蜡切片镜下图($\times 600$)

【图片资料】请扫描图 1-8 右下方的二维码, 观看光镜下蛙肾小管细胞形态。注意观察细胞质有很多染成蓝黑色的短杆状线粒体。

(2) 方法二: 临时制片(线粒体活体染色)。

1) 人口腔黏膜上皮细胞临时标本片的制备: 用绸布擦净载玻片和盖玻片, 在载玻片的中央滴一滴詹纳斯绿 B (Janus green B) 染液, 用牙签刮取口腔面颊部细胞, 均匀涂于染液中, 染色 5~10min, 用镊子夹住盖玻片的一端, 以 45° 倾斜, 慢慢落下盖在液滴上, 再用吸水纸吸取多余的水分, 注意不要产生气泡。

2) 观察: 低倍镜下可见成片或分散存在的口腔内黏膜上皮细胞呈扁平状, 核呈圆形或椭圆形, 位于细胞中央, 被染成蓝绿色。转换高倍镜观察, 可见细胞质中散在一些被染成亮绿色的粒状和短棒状的颗粒, 即线粒体。由于线粒体中的细胞色素氧化酶能使詹纳斯绿保持氧化状态而呈淡蓝绿色, 而在线粒体以外的细胞质区域的染料则被还原成无色, 故能特异地对线粒体进行活体染色。

3. 中心体

(1) 标本制作: 制备马蛔虫子宫石蜡切片, 铁苏木精染色。

(2) 观察: 低倍镜下观察马蛔虫子宫切片, 可见众多椭圆形的受精卵, 选择处于分裂中、后期的细胞, 转换高倍镜观察, 可见处于分裂中、后期的马蛔虫受精卵的两极各有一颗染色很深的小黑点, 这就是中心粒所在的位置。中心粒周围呈透亮区的部分为中心球, 两者构成中心体, 其外周有许多放射状分布的细丝, 即星射线, 合称为星体(图 1-9)。

4. 细胞骨架

(1) 标本制备: 将成纤维细胞培养在盖片上, 处理后用考马斯亮蓝 R250 染色。

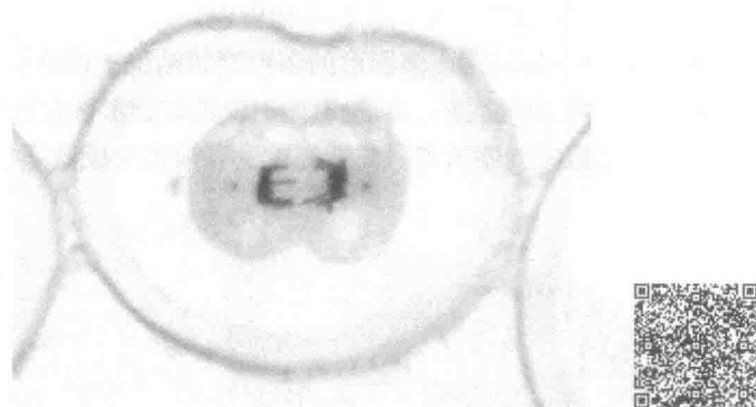


图 1-9 马蛔虫子宫石蜡切片镜下图 ($\times 400$)

【图片资料】请扫描图 1-9 右下方的二维码, 观看光镜下马蛔虫子宫切片受精卵形态。注意观察处于分裂中、后期的马蛔虫受精卵中心体结构。

(2) 观察: 低倍镜下可见成片染成天蓝色的成纤维细胞, 细胞核深染, 位于细胞中央。转换高倍镜观察, 可见沿细胞长轴方向分布着一些被染成蓝色的丝状纤维, 这就是由许多微丝聚集而成的微丝束, 有的交织成网状 (图 1-10)。

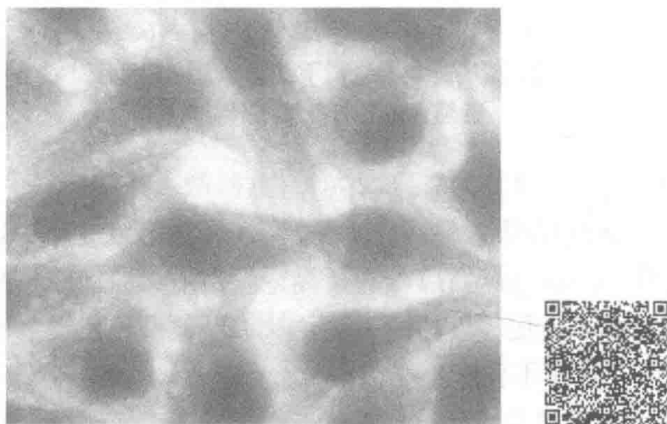


图 1-10 HeLa 细胞中显示微丝的镜下图 ($\times 400$)

【图片资料】请扫描图 1-10 右下方的二维码, 观看光镜下成纤维细胞形态。注意观察被染成蓝色的丝状纤维, 沿细胞长轴方向分布, 有的交织成网状, 即细胞骨架。

【实验准备】

1. 材料 蝾螈表皮装片, 蝾螈小肠横切片, 兔脊髓神经涂片, 人血涂片, 小鼠精子涂片, 小鼠肝细胞切片, 兔脊神经节切片, 蛙肾小管切片, 马蛔虫子宫切片, 细胞骨架的染色玻片。
2. 试剂 0.03% 詹纳斯绿 B 染液。
3. 器材 载玻片, 盖玻片, 吸管, 牙签, 纱布, 擦镜纸, 眼科剪, 小镊子。

实验二 细胞的显微测量技术

【实验目的】

1. 熟悉显微测微尺的测量原理及使用注意事项。
2. 学会在光学显微镜下测量细胞的长度。

【实验原理】 在显微镜下用来测量细胞的工具称显微测量计，由目镜测微尺 (ocular micrometer) 和镜台测微尺 (stage micrometer) 组成，在测量细胞时两种测微尺要配合使用。

目镜测微尺是一块圆形玻片，直径为 20mm，放在目镜上的焦平面上，其上有 10mm 长的线段，分成 100 小格，每一小格表示的实际长度随不同倍数的物镜和镜筒的长度不同而异。

镜台测微尺是一个特制的载玻片，在它的中央有一圆形盖玻片，下面封固着一精细刻度的标尺，标尺全长为 1mm 或 2mm，分为 100 或 200 等份的小格，每小格的长度为 0.01mm (10 μ m)，通过目镜测微尺和镜台测微尺刻度的重合，可计算出在不同倍数物镜下目镜测微尺每小格所表示的长度。在测量细胞时，移去镜台测微尺，换上被测标本，用目镜测微尺即可测得观察标本的实际长度 (图 1-11)。

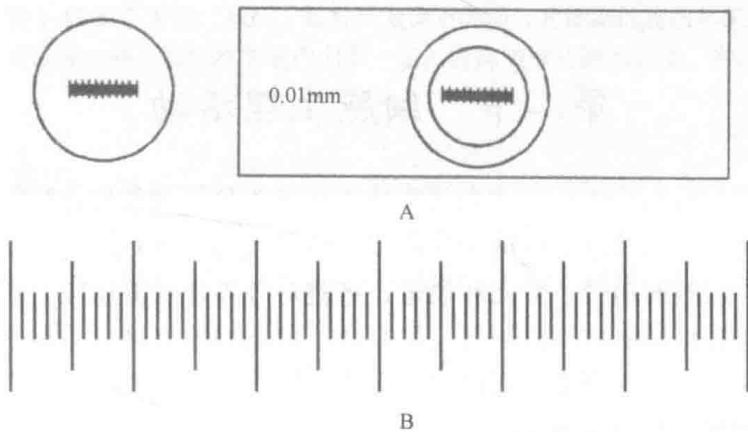


图 1-11 目镜测微尺、镜台测微尺外观形态 (A) 和低倍镜下观察镜台测微尺的结果 (B)

【实验内容与方法】

1. 将目镜测微尺的刻度面向下放入目镜筒视野光阑上，观察目镜并转动目镜，使目镜测微尺呈水平状态，“0”端在左侧。

2. 将镜台测微尺盖片向上放在载物台上，用低倍镜观察，调节焦距看清镜台测微尺的刻度。

3. 移动镜台测微尺，同时转动目镜，使目镜测微尺与镜台测微尺平行且重叠，并将两尺的“0”点刻度对齐。然后从左向右查看两尺刻度线重合处，记录重合处目镜测微尺和镜台测微尺的刻度 (图 1-12)。

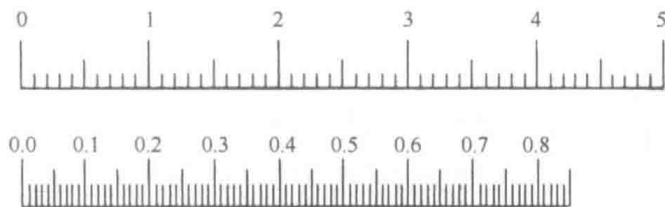


图 1-12 目镜测微尺和镜台测微尺实际长度的测算方法

用以下公式计算目镜测微尺每小格表示的实际长度：

目镜测微尺每小格实际长度 = 镜台测微尺格数 / 目镜测微尺格数 \times 10 μ m

4. 移去镜台测微尺, 换以观察标本(切片或培养细胞), 用目镜测微尺测量细胞的大小, 所得小格数乘以目镜测微尺每小格实际长度, 即为被测物的实际长度。

【实验准备】

1. 材料 待测量细胞的标本片。
2. 器材 显微镜, 目镜测微尺, 镜台测微尺。

【注意事项】

1. 更换显微镜或使用同一显微镜的高倍镜或油镜测量时, 要用同样的方法重新计算高倍镜或油镜下目镜测微尺每小格的实际长度。
2. 在测量时要注意将被测物体放在视野中央, 因为这个位置镜像最清晰, 相差最小。
3. 每一种被测物体(细胞)需反复测量数个或数十个, 采用其平均值。

(李 霞)

第二节 细胞生理活动

细胞生理学(cell physiology)主要研究活细胞的生理活动和生化特性。它不仅包括细胞形态的改变和维持, 以及细胞内的物质代谢和能量代谢、细胞运动、细胞膜的特性、免疫行为, 还包括了细胞的增殖、分化和衰老, 细胞对外界环境的反应、肌肉收缩、信息传递、神经细胞兴奋和传导的作用机制等。研究和了解细胞的生理活动对于认识生命现象的本质是十分重要的。本节内容主要通过胞质环流、细胞的吞噬现象等几个方面的实验使学生对细胞生理活动有一个初步的认识。

实验三 胞质环流

【实验目的】 观察胞质环流现象, 了解其机制。

【实验原理】 细胞质不断流动即为胞质环流(cyclosis, cytoplasm streaming)。通过胞质环流, 可借以实现胞内物质转运, 有利于代谢活动的进行。实验证实, 胞质环流与微丝的活动有关。对于植物细胞, 化学物质和光可激发胞质环流, 温度、离子和 pH 可影响胞质环流, 机械损伤、电休克或麻醉剂则可使胞质环流停止。凡是减低细胞质黏性的因素, 可使胞质环流的速度增加。在某些液泡发达的植物细胞中, 胞质环流的现象明显。黑藻嫩叶、南瓜茎上的表皮毛、鸭跖草蓝色花瓣或小万寿菊的花瓣的表皮毛都是观察胞质环流的好材料。

【实验内容与方法】

1. 实验材料 黑藻在实验前采集, 培养在盛有清水的玻璃缸内, 置于阳光下, 培养时要注意观察生长状况, 若生长不良要及时补充氧气。实验时用镊子取下一片黑藻顶端嫩叶, 放在载玻片上, 滴一滴水, 盖上盖玻片, 显微镜下观察。

2. 观察结果 显微镜下可以看到每个细胞内含有许多绿色椭圆形颗粒, 即为叶绿体。有些叶绿体和小颗粒在细胞内向着一一定的方向做有规则的运动, 即为胞质环流(图 1-13)。