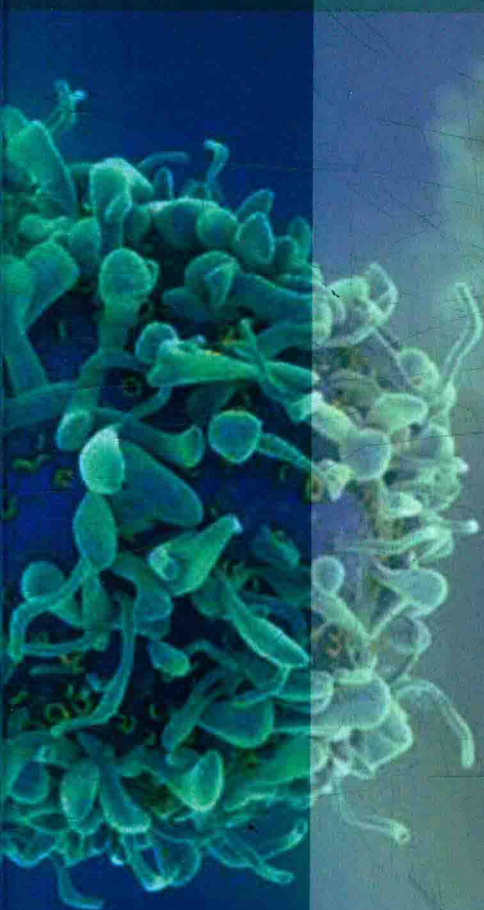
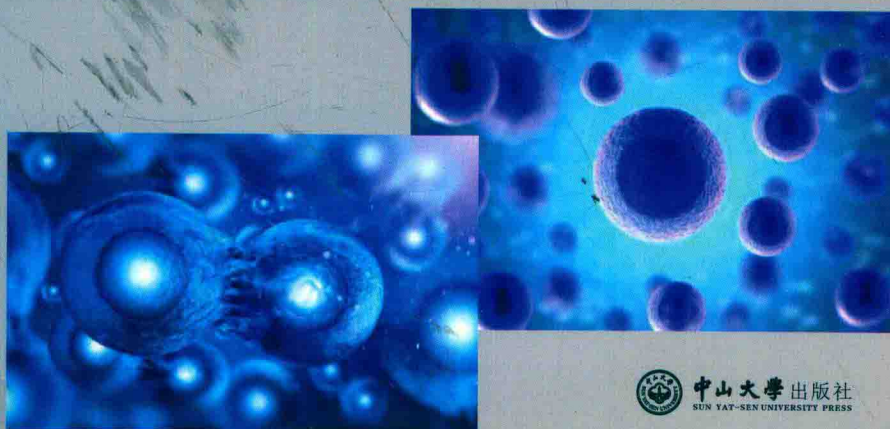




医学细胞生物学

实验指导及习题集

王波 主编
刘建中 主审

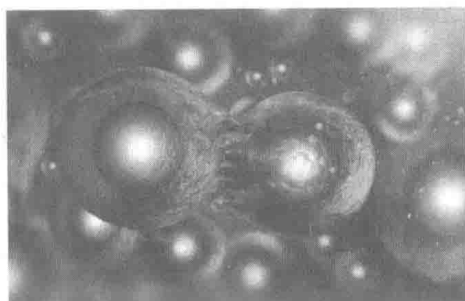
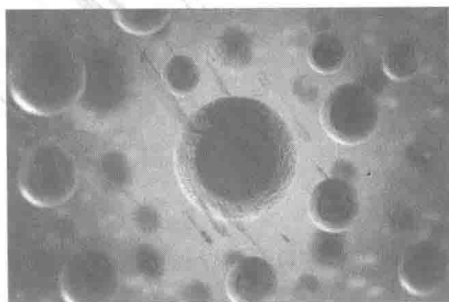


中山大学出版社
SUN YAT-SEN UNIVERSITY PRESS

医学细胞生物学

实验指导及习题集

王波 主编
刘建中 主审



中山大学出版社
SUN YAT-SEN UNIVERSITY PRESS

· 广州 ·

版权所有 翻印必究

图书在版编目 (CIP) 数据

医学细胞生物学实验指导及习题集/王波主编; 刘建中主审. —广州: 中山大学出版社, 2018. 8

ISBN 978 - 7 - 306 - 06393 - 9

I. ①医… II. ①王… ②刘… III. ①医学—细胞生物学—医学院校—习题集
IV. ①R329. 2 - 44

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 153055 号

YIXUEXIBAOSHENGWUXUE SHIYANZHIDAO JI XITIJ

出 版 人: 王天琪

策划编辑: 谢贞静 刘爱萍

责任编辑: 谢贞静

封面设计: 刘 桦

责任校对: 邓子华

责任技编: 何雅涛

出版发行: 中山大学出版社

电 话: 编辑部 020 - 84110771, 84113349, 84111997, 84110779

发行部 020 - 84111998, 84111981, 84111160

地 址: 广州市新港西路 135 号

邮 编: 510275 传 真: 020 - 84036565

网 址: <http://www.zsup.com.cn> E-mail: zdcbs@mail.sysu.edu.cn

印 刷 者: 佛山市浩文彩色印刷有限公司

规 格: 787mm × 1092mm 1/16 11 印张 242 千字

版次印次: 2018 年 8 月第 1 版 2018 年 8 月第 1 次印刷

定 价: 34.00 元

如发现本书因印装质量影响阅读, 请与出版社发行部联系调换

前 言

长期以来,中山大学中山医学院的医学生在学习中没有使用正式的医学细胞生物学实验指导教材,因此,拥有一本适用于本院教学的正式出版的教材,已成为本院师生的迫切希望。

作为中山医学院生物学教研室的一员,笔者始终坚持科学研究与教书育人并重的理念。为响应学院院长的号召,笔者在中山大学出版社的诚挚邀请下,编写了这本《医学细胞生物学实验指导及习题集》,以便更好地指导医学生的医学细胞生物学的实验及理论学习。本书的上编为实验指导,极具院校特色,既适用于中山大学本院医学细胞生物学的实验教学,也适用于国内其他医学院校的医学细胞生物学实验课程的学习。本书下编为习题部分,与本院理论课教学所用的人民卫生出版社出版的《医学细胞生物学》(第五版)教材配套编写而成,该教材也被国内大多数医学院校用于医学细胞生物学的教学用书,因而本书可作为理论课教学的辅导资料。

感谢中山大学出版社的谢贞静编辑、刘爱萍及其他相关工作人员,他们的热情邀约和悉心审稿,使这本教材的尽快出版成为现实。感谢教研室的刘建中副教授协助进行本书稿的主审工作,他曾主管医学细胞生物学的实验教学,并为此书的最终出版打下基础。

限于编者水平,书中疏漏及不妥之处在所难免,恳请广大师生在使用过程中加以批评指正。

王 波

2018年6月于中山医学院科技楼

目 录

上编 实验指导

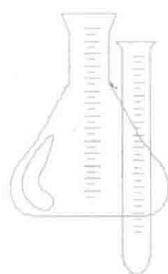
实验一	普通光学显微镜的构造及使用方法	3
实验二	蟾蜍红细胞显微测量	9
实验三	鸡红细胞计数	12
实验四	洋葱根尖的福尔根反应	16
实验五	小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬活动	20
实验六	小鼠成纤维细胞微丝的染色及观察	25
实验七	小鼠染色体标本的制备	29
实验八	细胞分裂染色体标本的观察	36
实验九	小鼠成纤维细胞原代培养	41
实验十	细胞传代、冻存和复苏	45
附录	试剂及溶液的配制	49

下编 理论课习题集

第一章	绪论	54
第二章	细胞的概念与分子基础	57
第三章	细胞生物学的研究方法(略)	62
第四章	细胞膜与物质的穿膜运输	63
第五章	细胞的内膜系统与囊泡运输	72
第六章	线粒体与细胞的能量转换	85
第七章	细胞骨架与细胞的运动	91
第八章	细胞核	100
第九章	基因信息的传递与蛋白质合成(略)	114
第十章	细胞连接与细胞黏附	115
第十一章	细胞外基质及其与细胞的相互作用	127
第十二章	细胞的信号转导(略)	138
第十三章	细胞分裂与细胞周期	139



第十四章	生殖细胞与受精（略）	147
第十五章	细胞分化	148
第十六章	细胞衰老与细胞死亡	159
第十七章	干细胞与组织的维持和再生（略）	169
第十八章	细胞工程（略）	170



上 编

实 验 指 导





实验一 普通光学显微镜的构造及使用方法

一、实验目的

- (1) 了解普通光学显微镜的构造及成像原理。
- (2) 掌握低倍镜、高倍镜和油镜的使用方法。

二、实验原理

光学显微镜 (light microscope) 简称光镜, 包括机械部分和光学部分。其光学部分是显微镜的重要部件, 包括物镜、目镜、聚光镜和光源等部件, 物镜和目镜均为凸透镜 (图 1-1)。被检标本 AB 放在物镜下方稍大于物镜的焦距处, 在物镜的上方形成一个倒立的放大实像 A'B', 该实像正好位于目镜的焦点以内, 经过目镜的放大, 得到一个放大的虚像 A'' B'', 通过调焦, 可使虚像落在眼睛的明视距离处 (约 25 cm), 在视网膜上形成一个直立的实像 (图 1-2)。



图 1-1 光学显微镜

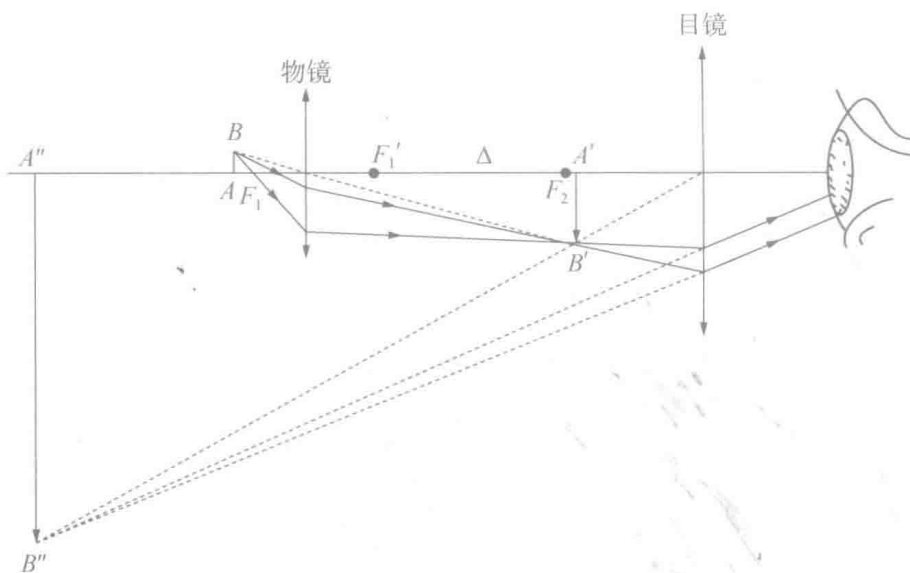


图 1-2 光学显微镜成像原理

光学显微镜的重要光学参数包括放大率（放大倍数）、分辨率（resolution, R ）、数值孔径（numerical aperture, NA ）、焦点深度（焦深, depth of field）、视场（field of view）和工作距离（working distance）。

放大倍数 = 目镜放大倍数 × 物镜放大倍数。分辨率 R ($0.2 \mu\text{m}$ 是光镜最高分辨率) 的计算公式为：

$$R = \frac{0.61 \lambda}{NA} = \frac{0.61 \lambda}{n \cdot \sin \alpha / 2} = \frac{0.61 \times 0.5}{1.50 \times 1.0} = 0.2 (\mu\text{m})$$

λ ：光波波长（此处白光为 $0.5 \mu\text{m}$ ）； NA ：数值孔径； n ：介质折射率（空气为 1）； α ：镜口角。 R 值越小说明显微镜分辨率越高，需要增大 n 值，香柏油的 $n \approx 1.5$ 。

焦深：使用显微镜时，当聚焦清楚某一物像时，不仅该物像所在平面上的各点都可以看清楚，而且在此平面上下的厚度内，也能看得清楚，这个清楚部分的厚度就是焦深。焦深大，可以看清的物像厚度大（低倍镜）；焦深小，可以看清的物像厚度小（高倍镜或油镜）。

视场：在显微镜的圆形视野内能看到的物体的实际范围。视场宽度与物镜的放大倍数成反比。因此，低倍镜看整体，高倍镜看局部。

工作距离：是指聚焦最清晰时物镜镜头末端与标本表面之间的间距，此距离与放大倍数成反比。

物镜设计为等焦，即各种放大倍数的物镜的“镜身长度 + 工作距离”均相等，因为不同倍数物镜聚焦后的工作距离不同，因而设计成不同长度的镜身，方便物镜之间的切换（图 1-3、表 1-1）。



图 1-3 光学显微镜聚焦原理

表 1-1 光子显微镜的物镜放大倍数、数值孔径与工作距离

物镜放大倍数	数值孔径/mm	工作距离/mm
4 ×	0.10	13
10 ×	0.25	6.5
40 ×	0.65	0.48
100 ×	1.25	0.2

三、实验器材和试剂

实验器材和试剂见表 1-2。

表 1-2 实验器材和试剂

器材和试剂	每组所需
光学显微镜	4 台
文字玻片	4 片
头发叉玻片	4 片
蟾蜍血涂片	4 片
香柏油瓶	1 瓶
除油剂瓶	1 瓶
抹镜纸盒	1 盒

四、分组形式

每4人为1组。

五、操作步骤

(一) 熟悉显微镜的基本构造及功能

1. 机械部分

(1) 镜座：显微镜的基座，支持和稳定镜体。

(2) 镜柱：镜座上面直立的短柱，连接镜座和镜臂。

(3) 镜臂：连接镜柱和镜筒，并支持载物台，是取用显微镜时握住的部位。

(4) 镜筒：镜臂前方的圆筒状结构，镜筒的上方安装目镜，下方安装物镜转换器。镜筒有单筒式和双筒式，单筒式的有直立和斜式两种，双筒式的都是倾斜式的。

(5) 物镜转换器：安装在镜筒下方的圆盘状构造，它有4~5个圆孔，用于安装不同放大倍数的物镜镜头。

(6) 载物台：位于物镜下方，是放置玻片标本的平台，平台下方的光线通过平台中央孔照射到标本上。

(7) 调节器：也称聚焦器，为调节焦距的装置，可分粗调节器（粗准焦螺旋）和细调节器（细准焦螺旋）两种。粗调节器可使镜筒或载物台较大幅度地升降，迅速调节物镜与标本间距离，使物像清晰出现在视野中。使用低倍镜时，首先使用粗调节器找到物像。而细调节器只能使镜筒或载物台较大幅度地升降，适用于粗调后或高倍镜和油镜聚焦时的精细调节。

2. 光学部分

(1) 目镜：安装在镜筒上端，能将物镜放大的物像进一步放大。目镜规格有三种，上面刻有5×、10×或15×符号，表示放大倍数，一般用10×目镜。

(2) 物镜：安装在镜筒下端物镜转换器上。每台显微镜一般有3~4个不同放大倍率的物镜，常用物镜放大倍数有4×、10×、40×和100×等4种。物镜是显微镜最主要的光学部件，决定着光镜分辨力的高低。一般将4×、10×的物镜称为低倍镜；将40×的物镜称为高倍镜，而将100×物镜称为油镜（使用时镜头需浸在香柏油中）。

(3) 聚光器：位于载物台的下方，由聚光镜和光圈构成，其主要功能是将光线集中到要观察的标本上，并可改变光线的强弱及反差。



(二) 光学显微镜的使用方法

1. 低倍镜的使用方法

(1) 调光：先将光源强度开关调到灯泡功率最小的位置，再插上电源，接通电源，选择 $4\times$ 低倍镜头对准通光孔，聚光器升到最高位置，调节光强度开关，使视野内的光线均匀、亮度适中。

(2) 放片：取文字玻片放置在载物台上，用标本移动器上的玻片夹固定标本玻片，注意使有盖玻片或贴标签的一面朝上。

(3) 调焦：用肉眼从侧面注视低倍镜，同时调节粗准焦螺旋使镜头下降至离标本玻片最近的距离，约5 mm，然后用双眼在目镜上观察，同时用手慢慢反向转动粗准焦螺旋使镜头上升（或使载物台下降），直至视野中出现最清晰的物像为止。如果标本片中的标本太小并染色不清楚，则可依据盖玻片边缘来聚集。然后地毯式搜索盖玻片覆盖的所有区域，直至找到标本的物象。如果镜头与玻片标本的距离超过1.4 cm 还未见到物像，则按上述方法重复一遍。

(4) 观察标本：观察头发交叉片和蛙血涂片。用低倍镜聚焦将头发交叉点后，将交叉点移到视野中央，旋动细准焦螺旋的同时仔细观察上下两根头发的清晰度（低倍镜和高倍镜下均观察）。观察蟾蜍血涂片时，找到细胞核、细胞膜和细胞质，观察大部分蟾蜍血细胞的典型形态和大小。

2. 高倍镜的使用方法

(1) 使用高倍镜前先用低倍镜找到物像，调到最清晰并将物像移至视野中。

(2) 转动物镜转换器，将高倍镜镜头转到工作状态，可见不太清晰的物像，缓慢调节细准焦螺旋，使物像清晰。此调焦过程注意不要让高倍镜压碎标本片，沿着一个方向旋转细准焦螺旋很久却依旧不能聚焦清楚，则观察高倍镜镜头与标本的距离，如果距离太近，则反向旋转细准焦螺旋调焦。

(3) 通常从低倍镜转换成高倍镜时，视野内的光线会变暗，需要升高聚光镜及增强灯泡光源强度。通常使用高倍镜时不用粗调节器，用细调节器也要缓慢进行，以免压坏玻片标本。

3. 油镜的使用方法

(1) 用高倍镜聚焦清晰标本物像后，将要放大观察的部分移至视野中央。将聚光器升到较高位置并将光圈开至最大。

(2) 转动物镜转换器使载物台通光孔处于高倍镜与油镜之间，往通光孔中央的玻片标本上滴一大滴香柏油，然后再转动物镜转动器，使油镜头处于工作状态，即油镜头下端浸泡在油滴中。如果油镜镜头不能触碰到油滴，则转开油镜镜头，再加一滴香柏油。

(3) 双眼注视两个目镜，同时任选一个方向小心缓慢地旋转细准焦螺旋半圈，如果不能聚焦，则考虑反向旋转细准焦螺旋一圈，如转不动细准焦螺旋则可能是镜头触碰到标本的盖玻片，不要大力旋转，以防压碎玻片。此聚焦过程可从侧面观察油镜



镜头与标本片的距离，以防距离太远偏离焦距或距离太近压碎玻片。

(4) 油镜使用完后，必须及时擦掉香柏油。操作时先升高油镜头，转动物镜转换器，移开油镜头，用抹镜纸擦去大部分香柏油，再滴一滴镜头清洁剂在新的抹镜纸上，沿着一个方向擦洗油镜镜头，最后换抹镜纸擦净残留的镜头除油剂。玻片标本上的油也要用抹镜纸和镜头除油剂擦洗干净。

六、观察与记录

(1) 文字片。先用肉眼观察文字的方向、大小，再放入显微镜载物台上，在低倍镜下聚焦清晰后，观察字母的方位是否发生了变化。载玻片移动的方向与视野中标本的移动方向是否有不同。

(2) 头发交叉片。先在低倍镜下聚焦找到头发交叉点并移至视野中央，再转换到高倍镜，小心调节细准焦螺旋至聚焦清楚，在高倍镜下将头发交叉点移至视野中央，然后换成低倍镜头，观察交叉点在视野里的位置。调节细准焦螺旋，分别在低倍镜和高倍镜下观察两根头发的上下位置及其清晰度。

(3) 血涂片。蟾蜍血涂片一般被瑞氏染料染成紫蓝色，在低倍镜下血细胞呈椭圆形，细胞核染成蓝色，胞质染成淡紫红色，细胞边界（细胞膜）清楚。

七、注意事项

(1) 使用显微镜观察任何标本都应按从低倍镜到高倍镜再到油镜的顺序进行。先用粗准焦螺旋给低倍镜聚焦清晰，将要观察的组织部分移到视野正中，再转换成高倍镜与油镜，用细准焦螺旋聚焦清楚。调焦动作要缓慢，以防压碎玻片标本。

(2) 油镜使用完毕后，转开油镜镜头，先用几块抹镜纸擦去镜头的大部分香柏油，再将除油剂滴加在另外几张抹镜纸上，沿着一个方向擦拭镜头，最后再用新的抹镜纸擦净镜头。

(3) 镜座、载物台等机械部分的脏物用纸巾或毛巾擦除。显微镜的搬动应保持直立状态，双手端在胸前，左手托住镜座，右手持握镜臂。

八、思考题

(1) 显微镜的低倍镜、高倍镜和油镜的工作距离分别是怎样的？

(2) 为什么使用显微镜要按从低倍镜到高倍镜再到油镜的顺序操作？

(3) 如果载物台上标本片放反了，即盖玻片朝下载玻片朝上，分别用低倍镜、高倍镜和油镜是否能清晰观察到标本？为什么？



实验二 蟾蜍红细胞显微测量

一、实验目的

- (1) 掌握细胞显微测量技术的原理和方法。
- (2) 了解细胞体积大小及计算方法。

二、实验原理

细胞的大小和形态依细胞的种类不同而不同，通常血细胞呈椭圆形或圆球形，直径在 $10\text{ }\mu\text{m}$ 左右，按照公式 $V = 4/3\pi ab^2$ (a 为长半径， b 为短半径) 可求出细胞体积。因此，测量细胞的体积首先要测量细胞的长、短直径，再计算出长、短半径。

通常使用显微测微尺测量细胞的大小，显微测微尺分为两种：物镜测微尺（简称台尺）和目镜测微尺（简称目尺）（图 2-1）。目尺为一块可以放入目镜内的圆形玻片，玻片中央有刻度尺（通常为十字形刻度或网格状刻度）。而目尺每个最小刻度的实际长度随不同的物镜放大倍数不同而改变。台尺为一载玻片中央有一长条形测微尺（刻度尺），测微尺的总长度为 1 mm ，被分成 100 个刻度，每一个最小刻度的实际长度是 0.01 mm ，即 $10\text{ }\mu\text{m}$ 。

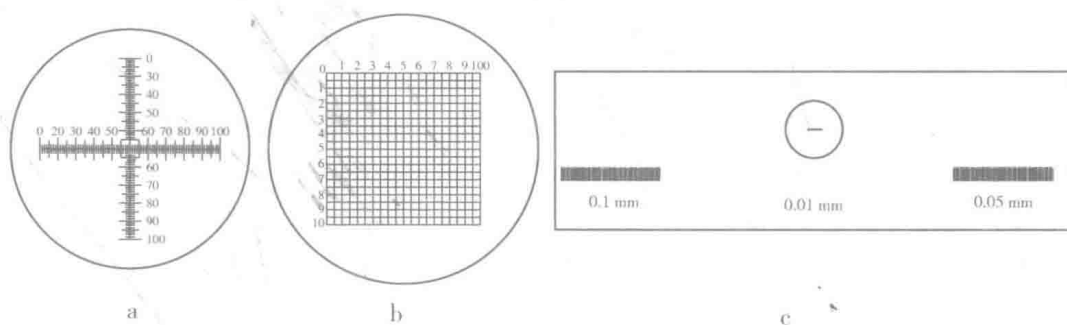


图 2-1 目镜测微尺 (a 和 b) 和物镜测微尺 (c)

当实际测量细胞大小时，首先在显微镜的低倍镜及高倍镜下，用台尺核算出目尺的每个最小刻度的实际长度，然后再用目尺去测定标本细胞的长、短直径。通常测定典型的形态正常的几个细胞，再求出长、短直径的平均值，计算出平均的长、短半径，代入椭圆球体或球体积的计算公式，算出最终的细胞体积。



三、实验器材和试剂

实验器材和试剂见表 2-1。

表 2-1 实验器材和试剂

器材和试剂	每组所需
光学显微镜	4 台
蟾蜍血涂片	4 片
物镜测微尺	1 片
目镜测微尺	4 片

四、分组形式

每 4 人为 1 组。

五、操作步骤

1. 熟悉两种测微尺

在显微镜下辨认目尺和台尺，目尺已被技术员安装在每台显微镜的一个目镜镜筒中，其刻度通常有两种，一种是十字形刻度尺，另一种是网格状刻度尺，均分为 50 个刻度。将台尺标本玻片样放在载物台上，用来测定计算目尺每格长度。

2. 测定目尺每个刻度的长度

(1) 首先旋转目镜镜筒，使目尺平面垂直于镜筒长度，以便于测量。然后选用 4× 的低倍镜，将台尺的刻度面朝上放于载物台通光孔上方，调节粗准焦螺旋聚焦，找到台尺刻度。将 0 刻度调至视野中心，转换成 10× 低倍镜物镜。

(2) 旋转目镜镜筒并调整台尺位置，使台尺的 0 刻度与目尺的 0 刻度重合，然后找出零点右边两个尺刻度的重合点，记录重合点处两个尺各自的刻度数。然后带入下列公式，计算出在此低倍镜下目尺每个最小刻度的长度。

$$\text{目尺每格的长度} (\mu\text{m}) = \frac{\text{对应的台尺格数}}{\text{对应的目尺格数}} \times 10 (\mu\text{m})$$

假如：目尺的 50 刻度与台尺的 65 刻度重合，则目尺每格的长度为 $65 \div 50 \times 10 = 13 (\mu\text{m})$ 。

(3) 转换成 40× 高倍镜，以同样的方法计算出高倍镜下目尺每个刻度的长度。

3. 测量 5 个典型蟾蜍红细胞及其细胞核的体积

(1) 测量蟾蜍红细胞的长、短直径：选择 5 个最正常典型的红细胞，在高倍镜



下用目尺测量长直径和短直径，并计算出长、短半径的真实长度（ μm ），填入实验报告表格。

（2）测量蟾蜍红细胞核的长、短直径：选择5个最正常典型的红细胞，在高倍镜下用目尺测量红细胞核的长直径和短直径，并计算出长、短半径的真实长度（ μm ），填入实验报告表格。

（3）然后根据椭圆球体体积公式 $V = 4/3\pi ab^2$ （ a 为长半径， b 为短半径），计算出蟾蜍红细胞和红细胞核的平均体积。

六、观察与记录

（1）分别在 $10\times$ 物镜和 $40\times$ 高倍镜下，用台尺核算出目尺每个最小刻度的实际长度（ μm ）。

（2）用目尺测得5个典型红细胞及其核的长、短直径，求得细胞及核的长半径和短半径数值。

（3）根据椭圆球体体积公式计算出典型红细胞及其核的体积。

七、注意事项

（1）不要轻易将目尺从目镜镜筒中取出，以免损坏。可旋转目镜镜筒以便调整好镜筒内目尺的位置。

（2）显微镜的使用严格遵从从低倍镜到高倍镜再到油镜的顺序，以免损坏台尺。观察台尺时通常降低聚光器并关小其通光孔，以增大反差，因为台尺刻度没有染色。

（3）在对齐台尺和目尺的零刻度前，确保台尺刻度聚焦至最清晰，以减少误差。

（4）测量红细胞及其核时，测得的是直径，计算出半径的实际长度才能带入体积公式。

（5）为真实测得红细胞及其细胞核的大小，通常测量多个细胞取平均值计算细胞体积。

八、思考题

为什么每换一个物镜都要重新用台尺测定核算出目尺每个最小刻度的实际长度？