



医学生物学
与医学细胞生物学
实验指导

李虹/主编

 科学出版社
www.sciencep.com

高等医学院校教学用书

医学生物学与医学细胞 生物学实验指导

主 编 李 虹

副主编 潘克俭

编 委 (以姓氏笔画排序)

杨春蕾 李学英 陈俊霞

郭风劲 蒲淑萍 魏会平

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书由多位长期在高等医学院校从事医学生物学与医学细胞生物学教学和研究一线教师共同编写,是一本介绍医学生物学与医学细胞生物学实验方法的书。本书精选了17个常用的与医学联系紧密的实验,主要描述实验方法与步骤,内容简明扼要,切实可行,不过多地研讨理论问题,是一本具体指导学生进行实验操作的辅助用书。

本书适用于从事医学及生物学相关专业的本科生、研究生作为教材使用,也可供教师和科研人员以及临床医师、药师等参考。

图书在版编目(CIP)数据

医学生物学与医学细胞生物学实验指导/李虹主编. —北京:科学出版社,2007

高等医学院校教学用书

ISBN 978-7-03-019680-4

I. 医… II. 李… III. ①医学:生物学-实验-医学院校-教学参考资料
②医学:细胞生物学-实验-医学院校-教学参考资料 IV. R318-33 Q2-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2007)第127905号

责任编辑:周 辉/责任校对:郑金红

责任印制:张克忠/封面设计:耕者设计工作室

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>

深海印刷有限责任公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2007年8月第 一 版 开本:B5(720×1000)

2007年8月第一次印刷 印张:6 1/4

印数:1—6 000 字数:110 000

定价:16.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

前 言

众所周知,医学生物学与医学细胞生物学是两门实践性很强的学科,并且这两门课程联系很紧密,尽管目前各地已有一些《医学生物学实验指导》与《医学细胞生物学实验指导》出版,但将这两门相关的课程并入一本教材,目前还没有。因此,考虑到与我们编写的普通高等教育“十一五”国家级规划教材《医学生物学》与《医学细胞生物学》配套使用,加强实验课教学,以满足广大医学院校学生的学习需求,我们几个院校联合编写了这本实验教材。

考虑到学生的经费及教材的使用率,本书精选了 17 个常用的与医学联系紧密的《医学生物学》与《医学细胞生物学》的实验,力求简明扼要,切实可行。鉴于各校在教学时数和实验条件上不尽相同,使用时可根据各自的条件选择书中的实验项目。

参加编写的同志有(按编写内容顺序):河北北方学院的魏会平,成都医学院的潘克俭,重庆医科大学的陈俊霞、郭风劲、蒲淑萍,遵义医学院的李学英,四川大学生命科学学院的杨春蕾、李虹。

本实验指导一书的出版,得到了各编写单位的大力支持,还得到了四川大学华西医学中心杨抚华教授的悉心指导,同时也得到了科学出版社的大力支持与帮助。在此谨代表同仁表示诚挚的谢意。

由于我们水平有限,加之编写的时间仓促,书中的不足在所难免,希望同行以及使用本教材的老师和同学们提出宝贵意见,以使本实验指导日臻完善,更适合医学院校教学的相关需要。

李 虹

四川大学生命科学学院

2007 年 4 月

医学生物学与医学细胞生物学实验规则

通过医学生物学与医学细胞生物学的实验,学生可以理论联系实际,验证巩固和提高课堂上所学的理论知识,训练与医学有关的生物学技能,培养独立思考、独立工作的能力和实事求是的科学态度,培养分析问题和解决问题的能力。为此,学生在进行医学生物学与医学细胞生物学实验中,必须自觉遵守以下规则:

1. 每次上实验之前要预习本实验指导,弄清此次实验的基本原理及主要步骤,同时带齐实验所需的教材、实验指导、记录本、绘图纸、实验报告纸、铅笔、直尺等。

2. 进入实验室时,学生应对号入座,对已排定的座位和配备的显微镜不得随意调换。上课时,学生应注意实验指导老师对本实验的提示,了解本次实验的内容及注意事项。一定要在老师讲解后再进行实验,对示教标本、模型或其他实验用品,不得任意挪动或带出实验室。

3. 实验中要仔细观察和认真操作,严格按照实验指导的方法和步骤进行,不得违反操作规则,同时要作好记录,认真绘图,按时完成实验报告。

4. 遵守纪律,保持课堂秩序,不得无故缺席、迟到或早退。

5. 培养良好的爱护国家财产的社会公德,爱惜实验室仪器设备,节约实验材料,节约用水、用电。如果损坏物品或仪器,应立即报告实验指导老师,并按规定处理。

6. 实验完毕后,应将用过的实验用具、实验台等擦洗干净,打扫清洁卫生,关好水、电、门、窗后,方可离去。

目 录

前言

医学生物学与医学细胞生物学实验规则

实验一	光学显微镜的结构及使用方法	1
实验二	动植物细胞的基本形态结构	11
实验三	光镜下的细胞器	20
实验四	细胞骨架的观察	24
实验五	细胞的化学成分观察	28
实验六	细胞膜的通透性观察	34
实验七	小白鼠腹腔巨噬细胞吞噬活动的观察	38
实验八	细胞器(核)的分离与鉴定	42
实验九	细胞有丝分裂的观察	46
实验十	细胞减数分裂标本的制备与观察	51
实验十一	小白鼠骨髓细胞染色体标本的制备	56
实验十二	人体外周血淋巴细胞染色体标本的制备及核型分析	60
实验十三	动物细胞培养及冻存复苏	66
实验十四	培养细胞的活力测定	75
实验十五	动物细胞融合	78
实验十六	染色体提前凝集	82
实验十七	细胞凋亡的诱导及形态学特征观察	87

实验一 光学显微镜的结构及使用方法

一、实验原理

光学显微镜 (light microscope) 简称显微镜或光镜, 是利用光线照明使微小物体形成放大影像的仪器。光镜是如何使微小物体放大的呢? 物镜和目镜的结构虽然比较复杂, 但它们的作用都相当于一个凸透镜, 由于被检标本是放在物镜下方 1~2 倍焦距之间的, 故物镜可使标本在物镜上方形成一个倒立的放大实像, 该实像正好位于目镜的下焦点 (焦平面) 之内, 目镜进一步将它放大成一个虚像, 通过调焦可使虚像落在眼睛的明视距离处, 在视网膜上形成一个直立的实像。显微镜中被放大的倒立虚像与视网膜上直立的实像是相吻合的, 该虚像看起来好像在离眼睛 25cm 处。

一台显微镜的性能和质量的高低可由各方面的指标来反映, 包括分辨率、放大率、镜口率、焦点深度和视场宽度等性能指标。这些性能都有一定限度, 彼此既相互作用又相互制约, 改善或提高某方面的性能, 往往会使另一性能降低。

分辨率 (resolving power) 是光镜最重要的性能指标, 是指显微镜或人眼在 25cm 的明视距离处, 能清楚地分辨被检物体细微结构最小间隔的能力, 即分辨出标本上相互接近的两点间的最小距离的能力。显微镜的分辨率由物镜分辨率决定, 而目镜与显微镜的分辨率无关, 它只将物镜已分辨的影像进行第二次放大。光镜的分辨率 (R) 可用下式计算:

$$R=0.61\lambda/N. A.$$

式中 λ 为照明光源的波长, N. A. 为镜口率。镜口率即数值孔径 (numerical aperture, N. A.), 是直接决定显微镜分辨率的

一个重要参数。N. A. 与分辨率成正比，N. A. 越大，显微镜的分辨率越强，但 N. A. 与焦点深度成反比。各种显微镜的镜口率一般刻在其外壳上。

二、实验用品

- (1) 材料：数字、毛发、英语字母装片、蛙血涂片等。
- (2) 试剂：二甲苯、香柏油。
- (3) 仪器设备：普通光学显微镜、擦镜纸等。

三、方法与步骤

(一) 光学显微镜的主要结构和功能

光学显微镜是生物学和医学教学、科研和临床工作中的重要仪器，每个医学生都必须熟悉它的主要结构和功能，掌握其使用方法。一般光学显微镜有倾斜式和直立式两种类型，其结构分为机械、照明和光学三部分（图 1-1）。

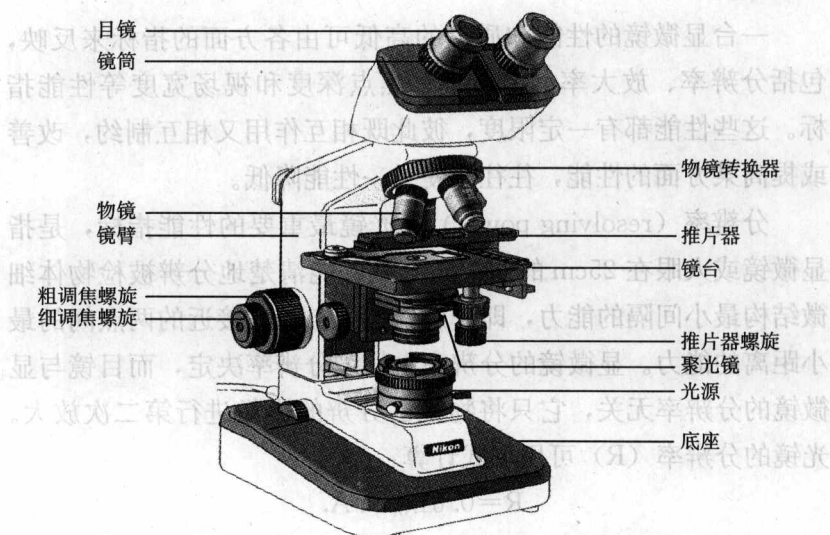


图 1-1 显微镜的结构

1. 机械部分

(1) 镜座：显微镜的基座，用以支持和稳定镜体。

(2) 镜柱：与镜座和镜臂相连的垂直结构。

(3) 调焦器：能调节焦距，呈同心圆排列，有大小两种螺旋。大螺旋（粗调焦器）可使镜台作较大距离和较快速度地升降，适于低倍镜对焦；小螺旋（细调焦器）可使镜台缓慢升降，用作较精细的调节，适于高倍镜和油镜的对焦。

(4) 镜臂：镜柱上方，略呈弓形，便于握提的结构。直立式显微镜在镜臂和镜柱之间有一可动关节称为倾斜关节，使用时可适当倾斜，但倾斜角度不应超过 45° ，以免显微镜翻倒。

(5) 镜筒：位于镜臂上方的圆筒，上端装有目镜，下端连接物镜转换器。分单筒式和双筒式两种。

(6) 物镜转换器（旋转盘）：装在镜臂的前端，镜筒的下端，呈盘状，下面有 3~4 个物镜孔，可安装不同放大倍数的物镜。换用物镜时，可转动旋转盘，注意一定要将旋转盘边缘上的缺刻和基座上的“T”形卡相扣合，使物镜与光轴合轴，否则无法观察标本。

(7) 镜台（载物台）：位于镜臂前方的方形平台，用以放置玻片标本。台中央有一通光孔，载物台上有标本推进器，用以固定玻片标本。既可固定标本，又可使之前后左右移动。标本推进器上有纵横游标尺，可利用游标尺上的刻度作为标记，以便寻找物像。

2. 照明部分

显微镜的照明装置由光源、反光镜、集光器和光圈组成。

(1) 光源：显微镜有不带光源和带光源的两类。前者利用自然光源或人工光源照明；后者为电光源照明，电光源灯一般装在镜座里或镜座后的灯壳中，可以使用镜座侧面的电压调节器，调节光源强度。

(2) 反光镜（mirror）：不带光源的显微镜才安装有反光镜，

一般装在镜座上，镜柱的前方，可向各个方向转动。反光镜一面是凹面镜，另一面是平面镜。凹面镜有聚光作用，适用于较弱和散射光，平面镜只有反射作用，一般用于较强光线和固定光源。有时使用平面镜，在视野内会出现窗外景物或窗框等，可下降聚光镜或使用凹面镜以消除之。

(3) 集光器 (condenser): 又名聚光器，位于镜台通光孔下方，由一组透镜组成。可使反光镜射来的光线集中于标本上，其侧面有一集光器螺旋，调节时可升降集光器，上升时光线增强，下降时光线减弱。

(4) 光圈 (diaphragm): 又叫虹彩光圈或光阑，位于集光器下方，由许多金属薄片组成，侧面有一光阑小柄，转动小柄可使光圈扩大或缩小，以调节进光量。

3. 光学部分

(1) 目镜 (ocular): 短筒状、插入镜筒上端。上面刻有 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $15\times$ 等符号，表示其放大倍数，可供选择。目镜镜筒内常安有一指针，用以指明视野中观察物像的部位，以利示范和提问。

(2) 物镜 (objective): 装在物镜转换器上，依放大倍数不同分为：低倍镜、高倍镜和油镜。低倍镜较短，镜孔直径最大，放大倍数为 $8\times$ 或 $10\times$ ；高倍镜较长，镜孔直径较小，放大倍数为 $40\times$ 、 $45\times$ 或 $60\times$ ；油镜最长（有的也较短），镜孔直径最小，放大倍数为 $90\times$ 或 $100\times$ 。

通常在物镜上刻有相应的标记。如在 $10\times$ 的物镜上刻有： $10/0.25$ 和 $160/0.17$ 。 10 为物镜放大倍数， 0.25 为镜口率（或N.A. 0.25 ）； 160 为镜筒长度， 0.17 为盖玻片厚度，二者单位均为毫米。

镜口率一般 $10\times$ 物镜的N.A.为 0.25 ， $40\times$ 物镜的N.A.为 0.65 ， $100\times$ 物镜的N.A.为 1.25 等。

显微镜的总放大倍数等于目镜和物镜放大倍数的乘积。如：目镜 $10\times$ 、物镜 $100\times$ ，其放大倍数为 $10\times 100=1000$ 倍。

(二) 显微镜的使用方法

右手握镜臂，左手托镜座，从镜盒中取出显微镜，轻放在自己座位左前方的实验台上，以离实验台边缘 3~6cm 处为宜。直立式显微镜可使用倾斜关节，镜筒略向自己倾斜（但不能超过 45°），以便观察。

1. 低倍镜的使用方法

(1) 对光：先转动粗调焦器，使镜筒略升高，再旋转物镜转换器，使低倍镜对准通光孔（可听到轻微的碰撞声）。然后打开光圈，上升集光器，双眼睁开，用左眼对准目镜观察，反复转动反光镜，直到视野内光线明亮均匀为止。

(2) 放片：取一张玻片标本，认清标本的位置和正反面，将有盖玻片的一面朝上，用压片夹或标本推进器固定，然后用手或标本推进器调节，将要观察的标本对准通光孔的中央。

(3) 调焦：先从侧面注视低倍镜，转动粗调焦器，使低倍镜距玻片标本约 0.5cm，然后用左眼从目镜中观察视野，缓慢转动粗调焦器，使低倍镜慢慢上升，当视野中出现物像时，再用细调焦器调节，直到视野中出现清晰的物像为止。

如果在调节焦距时，物镜与标本之间的距离已超过工作距离（指显微镜物像调节清晰时，物镜最下面透镜的表面与盖玻片上表面的距离）而仍未见到物像，则应该严格按上述步骤重新操作。

如果物像不在视野中央，可前后左右移动标本。注意玻片移动的方向与物像移动的方向相反。

如果光线太强或太弱，可慢慢地缩小或扩大光圈；也可下降或上升集光器，找到最合适的光亮度。你会发现最强的光线不一定是合适的。

2. 高倍镜的使用

(1) 一定要在低倍镜下找到物像后，才将要放大观察的部分

移至视野正中央，并调节清晰。

(2) 从侧面注视物镜，转换高倍镜。

(3) 从目镜中观察，可见视野中有不太清晰的物像，此时慢慢地转动细调焦器，即可见到清晰的物像。注意使用高倍镜时，不要随意转动粗调焦器，以免镜筒下降幅度大而损坏标本或镜头。

如果按上述操作看不到物像，应该检查可能的原因，例如：目的物不在视野中，是否由于低倍镜下没有将其移至视野正中；低倍镜的焦距是否调好，玻片标本是否放反；物镜是否松动或有污物等。

3. 油镜的使用

(1) 一定要在高镜倍下，将拟用油镜观察的目的物移至视野正中央。

(2) 光圈开大，集光器上升到最高位置。

(3) 旋转物镜转换器，使高倍镜转开，眼睛注视侧面，在欲观察标本的部位滴上一滴香柏油，转换油镜，使油镜面与香柏油滴接触。

(4) 从目镜观察，同时慢慢上下转动细调焦器，直至出现清晰的物像。

当油镜使用后，必须把镜头和标本上的香柏油擦干净，可用拭镜纸蘸少许二甲苯将镜头和标本上的香柏油擦去，再用干拭镜纸擦净。无盖片的标本不能擦，以免损坏标本。临时制片因有水分，不宜用油镜观察。

(三) 使用显微镜的注意事项

(1) 取镜时，一定要一手握镜臂，一手托镜座，切勿单手斜提，以免碰坏显微镜或部件脱落。

(2) 显微镜不可放置在实验台边缘，以防碰翻落地。

(3) 使用前要检查，如发现缺损，或使用损坏，应立即报告指导教师。

(4) 放置玻片标本时, 应将盖片的一面向上, 否则使用高倍镜和油镜时将找不到物像, 同时又易损坏玻片标本和镜头; 临时制片要加盖片, 由于含有水分, 易于流动, 镜台需平放。

(5) 不得随意取出目镜或拆卸零部件, 以防灰尘落入或丢失、损坏等。

(6) 使用显微镜时, 应该养成正规操作的习惯, 两眼睁开, 两手并用, 边观察, 边记录和绘图等。

(7) 维护显微镜清洁。机械部分如有灰尘、污物等可用绸布擦净。光学和照明部分的镜面, 只能用拭镜纸轻轻擦拭, 切不可用手指、手帕和绸布等擦摸, 以免磨损镜面。

(8) 显微镜使用后, 应升高镜筒, 取下玻片标本, 再下降镜筒, 使每一个物镜都不对准通光孔, 垂直反光镜, 下降集光器, 复原倾斜关节, 然后放回镜盒。

四、实验结果

取数字、毛发装片、蛙血涂片或其他材料装片, 按照上述显微镜的正规使用方法和注意事项, 反复练习低、高倍镜的使用, 以掌握显微镜的正确使用方法。

(1) 蛙血涂片的观察: 蛙血涂片上的血膜一般用瑞氏染料染成蓝紫色, 调准焦后即可见到血细胞, 蛙血细胞包括红细胞, 白细胞和血小板。

(2) 数字装片: 取数字装片, 先用眼睛直接观察, 然后再放到低倍显微镜下观察。

五、思考题

(1) 怎样区分低倍镜、高倍镜和油镜? 如不注意区分, 错用物镜可能造成什么后果?

(2) 在对光时, 如果视野中出现窗外景物或窗框, 你应该怎样处理?

(3) 如何调节视野内的光线强度?

(4) 使用显微镜观察标本, 为什么一定要从低倍镜到高倍镜再到油镜的顺序进行?

(5) 如果在高倍镜下, 未看到物像, 可能有哪些原因? 应该怎样解决?

(6) 在转动细调焦器时, 如已达极限不能转动时, 你应该采取什么措施?

果 杏 金 突 , 四

显微镜上照透, 扎染林林册其地扎新血抽, 扎染袋手, 牢楚邓
用射的射曾高, 册区燕夏又, 更毒意书味去式用射眼玉的透
去式用射的玉的射紫显器掌以

染林紫丹露用抽一聚血的士扎新血抽; 察取的扎新血抽 (1)
白, 幽暗正器射眼血抽, 幽暗血底见可咽可燕都斯, 色紫燕
; 射小血眼幽暗

效再可然, 察取射直翻用决, 扎染牢楚邓, 扎染牢楚 (2)
; 察取不射眼幽暗

眼 杏 思 , 正

用带, 代因意若不取? 射幽暗曾高, 射曾册代因带 (1)
; 果白公什如燕册可射

射幽暗, 射幽暗射幽暗出中理燕果血, 扣光权 (2)
; 射代理?

[附] 其他几种显微镜简介

在生物学和医学领域中，目前常用的其他几种显微镜如下：

1. 解剖显微镜 (dissecting microscope)

此种显微镜所成物像为正像，观察实体标本有立体感，用于观察或解剖细小生物。

2. 倒置显微镜 (inverted microscope)

物镜位于标本的下方，光源位于标本的上方，主要用于细胞培养等的活体观察。

3. 暗视野显微镜 (dark field microscope)

其特点是使用中央遮光板或暗视野集光器，使光线通过集光器透镜边缘，倾斜地照射在标本上，经标本的反射或散射，再射入物镜内。因而整个视野是暗的，所观察的是被检物体的衍射光图像，用于观察微小生物的运动、活细胞的结构和胞内微粒的运动等。

4. 荧光显微镜 (fluorescence microscope)

这是由普通光学显微镜加上一些附件（如荧光光源、激发滤片、双色束分离器和阻断滤片等）组成。荧光光源一般采用超高压汞灯（50~200W），经过激发滤片系统发出一定波长的激发光（如紫外光或紫蓝光），激发标本内的荧光物质发射出各种不同颜色的荧光后，再通过物镜、目镜的放大进行观察。主要用于研究细胞结构、功能和化学成分等。

5. 相差显微镜 (phase contrast microscope)

其主要结构特点是光学系统中有一套特殊装置（如环状光圈

和带相板的物镜等),能改变直射光或衍射光的相位,并利用光的衍射和干涉现象,把相差变成振幅差(明暗差),增强反差,以利于观察活标本或未染色的标本。

6. 电子显微镜 (electron microscope)

这是利用电子束为照明源,使物体成像。特点是分辨率高,放大率大,不仅可以观察样品的二维平面结构,还可得到三维空间的信息。光学显微镜的分辨率一般仅为 $0.2\mu\text{m}$,电镜分辨率一般为 0.3nm ,最高可达 0.07nm ;光学显微镜放大率最大为 $1500\sim 1700$ 倍,而电镜放大率可达 $1\ 000\ 000$ 倍,常见的电镜有透射电镜 (transmission electron microscope) 和扫描电镜 (scanning electron microscope)。

(1) 透射电镜 电子束由电子枪射出,经高压加速和聚光透镜的聚焦,然后穿过样品,再经过多级电磁透镜(物镜、中间镜、投影镜)的放大,最后高度放大的图像显示在荧光屏上或记录在照相装置中。用于透射电镜的样品,必须做成超薄切片,一般厚度为 $30\sim 60\text{nm}$ 。

(2) 扫描电镜 是利用由电子枪发射出,经过加速、聚集形成的一束很细小的电子束,在样品表面扫描,电子束中的电子与样品中的原子作用,可产生二次电子,二次电子信号的大小依样品表面的外形而异,因而利用反射回来的二次电子信号,经收集、放大,在荧光屏上显示出样品表面高度放大的立体图像。样品不必作超薄切片,制备较简单。

近年来还出现了其他几种电镜,如超高压电镜 (ultravoltage electron microscope),扫描透射电镜 (scanning transmission electron microscope),扫描隧道电镜 (scanning-tunnel electron microscope) 和分析电镜 (analyzing electron microscope) 等。

(魏会平)

实验二 动植物细胞的基本形态结构

一、实验原理

细胞既是生命的基本单位，也是生命的功能单位。动物、植物生长发育是通过细胞分裂、细胞数目增加完成的。而在这个过程中，细胞出现了分化，机体的细胞在结构和功能上出现了差异，分别形成不同类型的细胞、组织和器官。通过在光学显微镜下进行观察，可以发现各种组织细胞有不同的形态结构，而且与其功能是相互适应的。

临时制片是快速简捷观察生物和细胞的方法，了解和掌握临时制片在制作方法上对于我们的学习生物学和观察有很大的帮助。在显微镜下绘图是准确记录和描绘所观察对象的方法，而对于学生来说也是加深了解的一个过程。

二、实验用品

(1) 玉葱鳞叶、人口腔黏膜上皮细胞、小白鼠及家兔脊髓涂片、家兔骨骼肌纵切片、黑斑蛙透明软骨切片、蟾蜍及人血。

(2) 1%甲苯胺蓝液、0.2%甲基蓝液、磷酸缓冲液 (PBS)、蒸馏水、乙醇、二甲苯。

(3) 显微镜、目镜测微尺、物镜测微尺、载片、盖片、解剖镊、解剖剪，解剖针、解剖盘、小平皿、消毒牙签、吸水纸、白布、拭镜纸。

(4) 绘图用具及绘图纸 (学生自备)。