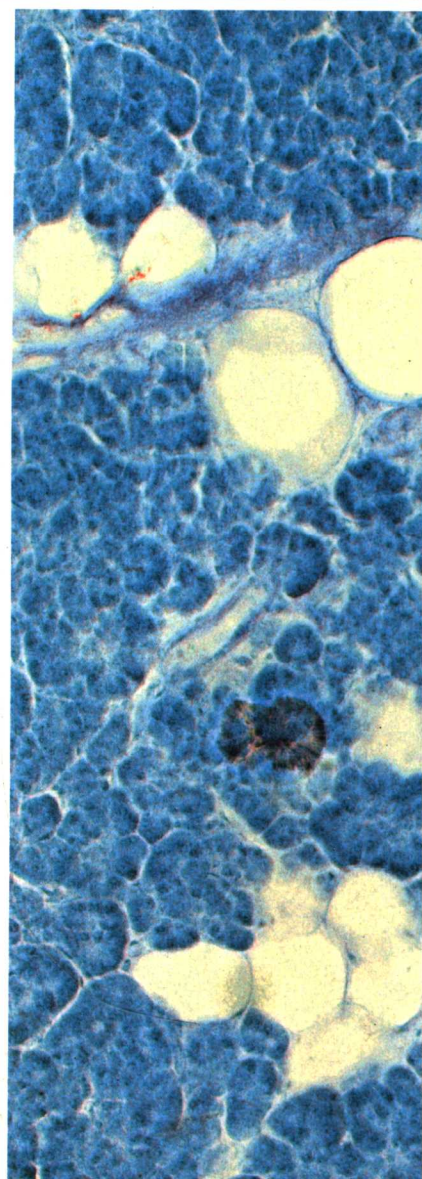


医学高等专科学校教材

# 细胞生物学 和医学遗传学 实验指导

主 编 赵则祥  
周长文  
陶淑玲



北京大学医学出版社

医学高等专科学校教材

# 细胞生物学和医学遗传学实验指导

主编：赵则祥 周长文 陶淑玲

北京大学医学出版社

# XIBAOSHENGWUXUE YU YIXUEYICHUANXUE SHIYAN ZHIDAO

## 图书在版编目 (CIP) 数据

细胞生物学和医学遗传学实验指导/赵则祥, 周长文,  
陶淑玲主编. —北京: 北京大学医学出版社, 2007. 3  
ISBN 978-7-81116-225-7

I. 细… II. ①赵…②周…③陶… III. ①细胞生物学—  
实验—医学院校—教学参考资料②医学遗传学—实验—  
医学院校—教学参考资料 IV. Q2-33 R394-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 015080 号

## 细胞生物学和医学遗传学实验指导

主 编: 赵则祥 周长文 陶淑玲

出版发行: 北京大学医学出版社 (电话: 010-82802230)

地 址: (100083) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

网 址: <http://www.pumpress.com.cn>

E-mail: [booksale@bjmu.edu.cn](mailto:booksale@bjmu.edu.cn)

印 刷: 莱芜市圣龙印务有限责任公司

经 销: 新华书店

责任编辑: 吕晓凤 责任校对: 杜 悦 责任印制: 郭桂兰

开 本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 10.5 字数: 268 千字

版 次: 2007 年 3 月第 1 版 2007 年 3 月第 1 次印刷 印数: 1-6000 册

书 号: ISBN 978-7-81116-225-7

定 价: 18.80 元

版权所有, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

# 前 言

卫生部规划的供全国医学专科学校临床医学等专业使用的《细胞生物学和医学遗传学》教材（第3版）已被使用两年多了，目前非常需要一本与之配套的实验指导。为了让学生能够巩固所学的理论知识，提高实验操作技能，培养学生科研创新能力，我们试图以当前全国医学高等专科学校和医学高等职业院校使用的这套理论教材为蓝本，组织编写了这本《细胞生物学和医学遗传学实验指导》作为配套实验教材。供医学高等专科学校和医学高等职业院校临床医学等专业学生使用。

全书共编入实验项目二十五个。在编写过程中，我们注意紧密结合理论教材内容，适应当前细胞生物学和医学遗传学迅速发展的形势，选取能够反映当前科技现状，大多数院校都能够开展的实验项目作为编写内容。并且力求实验内容系统全面、突出重点、操作简便、实验结果明显。通过实验操作，进一步提高学生乐于动手、善于动脑和观察分析问题的综合能力。

为了便于学生复习理论知识，巩固课堂学习成果，书中特意编写了《细胞生物学和医学遗传学》学习要点作为附录部分，其内容与理论教材章节内容同步。可供高等医学院校医学生课下复习、教师辅导答疑和其他医学工作者参考。

在本书编写工作中，得到上级领导、专家及出版社的大力支持和指导，在这里我们一并表示感谢。

由于我们专业水平有限，经验不足，书中难免有差错或不足之处，希望广大师生使用本教材时发现错误或不当之处及时给予指正。

编者

2006年12月

## 目 录

|       |                          |      |
|-------|--------------------------|------|
| 实验一   | 显微镜的结构和使用方法              | (1)  |
| 实验二   | 动植物细胞的结构                 | (7)  |
| 实验三   | 细胞器的观察                   | (10) |
| 实验四   | 细胞的吞噬活动                  | (13) |
| 实验五   | 细胞的增殖                    | (15) |
| 实验六   | 细胞培养                     | (19) |
| 实验七   | 动物细胞减数分裂标本的制备与观察         | (25) |
| 实验八   | 人类正常遗传性状的调查              | (29) |
| 实验九   | 人类 ABO 血型的遗传             | (32) |
| 实验十   | 遗传病系谱分析                  | (34) |
| 实验十一  | 小白鼠骨髓细胞染色体制备及观察          | (37) |
| 实验十二  | 人外周血淋巴细胞培养、染色体标本的制备与观察   | (41) |
| 实验十三  | 人类非显带染色体核型分析             | (46) |
| 实验十四  | 染色体 G 显带标本的制备与观察         | (48) |
| 实验十五  | 人类染色体 C 显带标本的制备技术        | (54) |
| 实验十六  | 姐妹染色单体互换标本的制备与观察         | (57) |
| 实验十七  | 人类异常核型的观察与分析             | (60) |
| 实验十八  | 人类性染色质标本的制备与观察           | (63) |
| 实验十九  | 人类脆性 X 染色体标本的制备与观察       | (67) |
| 实验二十  | 人类绒毛细胞染色体标本制备            | (71) |
| 实验二十一 | 人类羊水细胞培养及染色体标本的制备        | (75) |
| 实验二十二 | PKU 的快速诊断及 G-6-PD 杂合子的检出 | (79) |
| 实验二十三 | PCR 技术在性别诊断中的应用          | (81) |
| 实验二十四 | 人类基因组 DNA 的提取            | (83) |
| 实验二十五 | 人类染色体显微摄影技术              | (86) |

### 附录：《细胞生物学和医学遗传学》学习要点

|     |        |       |
|-----|--------|-------|
| 第一章 | 细胞的概述  | (95)  |
| 第二章 | 细胞膜    | (97)  |
| 第三章 | 核糖体    | (100) |
| 第四章 | 细胞内膜系统 | (102) |
| 第五章 | 线粒体    | (105) |

|       |                   |       |
|-------|-------------------|-------|
| 第六章   | 细胞核·····          | (109) |
| 第七章   | 细胞骨架·····         | (116) |
| 第八章   | 细胞增殖·····         | (118) |
| 第九章   | 细胞的分化、衰老与死亡·····  | (121) |
| 第十章   | 干细胞与细胞工程·····     | (125) |
| 第十一章  | 医学遗传学概述·····      | (127) |
| 第十二章  | 基因与基因突变·····      | (129) |
| 第十三章  | 单基因遗传与单基因遗传病····· | (131) |
| 第十四章  | 多基因遗传与多基因遗传病····· | (137) |
| 第十五章  | 人类染色体与染色体病·····   | (139) |
| 第十六章  | 线粒体遗传病·····       | (146) |
| 第十七章  | 分子病与遗传性酶病·····    | (148) |
| 第十八章  | 群体中的基因·····       | (150) |
| 第十九章  | 药物反应的遗传基础·····    | (155) |
| 第二十章  | 肿瘤遗传·····         | (158) |
| 第二十一章 | 遗传病的诊断、预防和治疗····· | (160) |

# 实验一 显微镜的结构和使用方法

## 【目的与要求】

1. 熟悉显微镜的主要结构和功能。
2. 熟练掌握显微镜的使用方法。

## 【材料与用品】

普通光学显微镜、其他类型的显微镜、《显微镜的使用》电视录像片、标本装片、新制涂片、二甲苯、香柏油、擦镜纸等。

## 【内容与方法】

光学显微镜是细胞生物学、医学教学、科研和临床工作中常用的仪器。光学显微镜的外形和结构因型号不同略有差异，但其基本结构和功能是相似的。

### 一、显微镜的基本构造及性能

显微镜的结构主要由机械部分、照明部分、光学部分三部分构成（图 1-1）。

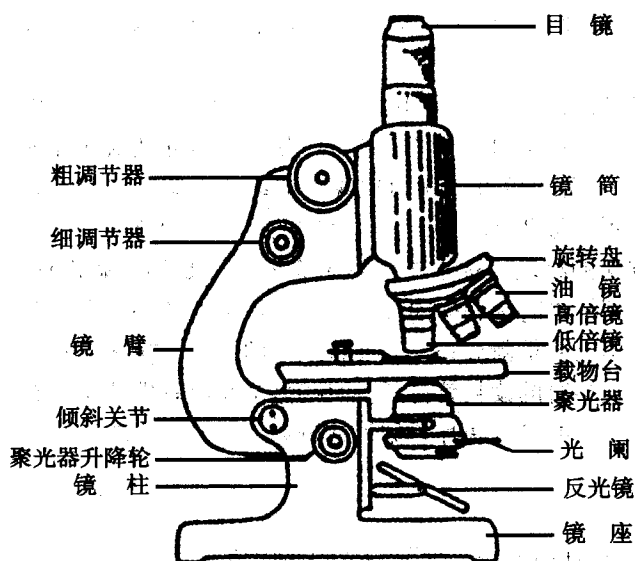


图 1-1 复式光学显微镜（直立式）

## (一) 机械部分

1. **镜座**：是显微镜的基座，通常为马蹄形或方形等，用以支持和稳定镜体。
2. **镜柱**：是自镜座向上直立的短柱，与镜座和镜臂相连。
3. **镜臂**：是镜柱上面的弯曲部分，支持镜筒和镜台，便于握拿。
4. **镜筒**：是安装在镜臂前方的筒状部分，上端装有目镜，下端与旋转器相连。分单筒式和双筒式两类。单筒式又分直立式和倾斜式两种。双筒镜都是倾斜式的。

直立式的目镜和物镜的中心线（光轴）在同一直线上。在镜柱和镜臂相接处有一可动关节称为倾斜关节，使用时可使镜筒成一定角度的倾斜以便观察，但倾斜角度不应超过 45 度，以免翻倒。

倾斜式显微镜本身已作倾斜位置，所以没有倾斜关节。倾斜式的目镜和物镜的中心线互成 45°角，在镜筒的转折处装有棱镜，使光线转折 45°。双筒式的目镜与镜筒之间有一环状结构，称镜筒长度补偿环，转动此环可调节目镜焦距。

5. **调节器**：位于镜臂上方或镜柱两侧，有大小两种螺旋用于调节焦距。大螺旋为粗调节器，转动时可使镜筒或镜台以较快速度或较大距离升降，适于低倍镜使用。小螺旋为细调节器，转动时能使镜筒或镜台缓慢升降，适用于高倍镜和油镜，用于调节物像的清晰度和标本的不同层次。

有些显微镜的调节器在镜柱两侧，为大小重合的圆形螺旋，外轮粗大螺旋为粗调节器，较小的内轮为细调节器。右侧粗调节器内侧有一窄环，称粗调松紧调节轮，用以调节粗调节器的松紧度，向外转时偏紧，反之则偏松。左侧粗调节器内侧为一短柄环，称粗调限位环凸柄，当用粗调节器调焦看到物像时即可停止转动，然后向内推紧粗调限位环凸柄，粗调即已限位，镜台不能继续上升，但微调手轮仍能调节。

6. **旋转盘**：又称物镜转换器，装在镜筒下端，是一个可以自由旋转的圆盘，上有 2~4 个圆孔。各种不同放大倍数的物镜就装在这些孔里，旋转此盘可以调换物镜。在圆盘的边缘，每一物镜位置的正上方都有缺刻，而圆盘基座的正前方有一固定扣。当旋转物镜时，一定要将该物镜上方的缺刻和基座上的固定扣相扣接，使物镜和光轴同心，否则无法观察标本。

7. **载物台**：又称镜台。位于物镜下面，有方、圆两种形状，用以放置玻片标本。镜台中央有一通光孔，由反光镜反射而来的光线透过聚光镜经此孔射向标本。

8. **推动器**：位于镜台的后方或侧面边缘。推动器上附有弹簧钩，用以夹持玻片标本。推动器的一侧有两个用以移动标本的螺旋，其中的一个是调节玻片标本左右方向的移动，另一个使玻片作前后方向的移动。标本推动器上有刻度，是用来确定标本在视野中位置的标记。如果在第一次找到标本时记住横向及纵向两个刻度的读数，当以后再进行观察时，如使用同一架显微镜，就不需要重新寻找，只要将原来的玻片夹在标本推动器的弹簧钩中，然后调节推动器至第一次观察时的读数就行了。有些显微镜没有推动器，而是在载物台中央圆孔的两旁装有两片具有弹性的薄金属片，称为弹簧夹，用以稳定玻片标本，寻找物像时需用手移动玻片。

## (二) 照明部分

1. **反光镜**：位于镜柱前方的一个圆形平凹两面镜，能转向各方，用以反射任何方向的光源聚光器。镜的平凹两面也可以自由转换，凹面聚光作用较强，通常在光线弱时使用，当光线强而均匀时则用平面镜。不过实验室内的光线常不甚均匀，所以常用凹面镜。有些显微

镜使用电源照明，没有反光镜。

2. 聚光器：位于载物台通光孔下方，由一组透镜组成，可使反光镜反射而来的光线集中于标本上，以增加亮度。左下方有一小螺旋，转动时可升降聚光器。上升时光线增强，下降时光线减弱。

3. 光阑：又称光圈。装在聚光器的底部，内部装有许多叠扇形的活动薄钢片，形似照相机的光圈。拨动圆环外侧的柄，能使光圈扩大或缩小，从而调节光线的强弱。光圈大则光线强，适于观察深色的标本；色浅或透明的标本，则应缩小光圈观察。有些显微镜在光圈的下面还装有一个可以移动的金属环，这是滤光片框。当使用人工光源时，有时有必要在框中放置滤光片，以改善光线。用一般钨丝灯照明时，宜加蓝色滤光片；如用日光灯照明时，则无需加放滤光片。

### (三) 光学部分

1. 目镜：是一个很短的圆筒状构造，两端镶有两片透镜，套在镜筒的上端。每架显微镜通常都配备两到三个目镜，放大率各不相同，其上刻有  $6\times$ 、 $10\times$ 、 $15\times$  等符号，以表示目镜的放大倍数。倍数越大，目镜长度越短，放大率则越高，反之亦然。可以根据需要挑选使用，不过一般装在镜筒上的都是  $10\times$  的目镜。教师做示教时，可在目镜的两片透镜之间加装一段头发或钢丝做成指示针，以指明观察目的物的部位。

2. 物镜：依放大倍数不同，分为低倍镜、高倍镜和油镜三种，通常在旋转盘上装有两至三个物镜。每个物镜上刻有相应的标记。“N·A”表示镜口率，如  $10\times$  物镜上标有  $10/0.25$  和  $160/0.17$  的字样，其中  $10$  表示物镜的放大倍数， $0.25$  为镜口率， $160$  为镜筒长度 ( $160\text{mm}$ )， $0.17$  为所要求盖玻片的厚度 ( $0.17\text{mm}$ )。一般  $40\times$  的 N·A 为  $0.65$ ； $100\times$  的 N·A 为  $1.25$  等。

从外形上能区分几种物镜。低倍镜镜身短细，镜面直径最大，其上刻有  $8\times$  或  $10\times$ ；高倍镜镜身较长而粗，其上刻有  $40\times$  或  $45\times$ ，镜面直径较小；油镜镜身最长，镜面直径最小，其上刻有  $90\times$  或  $100\times$ ，各种物镜下端常以红、黄或白圈表示。

有的高倍镜和油镜上装有弹簧，能起缓冲作用，防止物镜与镜台或玻片相撞时造成损伤。

放大倍数 = 目镜的放大倍数  $\times$  物镜的放大倍数

如目镜为  $10\times$ ，物镜为  $40\times$ ，其放大倍数为  $10 \times 40 = 400$  倍。

## 二、显微镜的使用方法

### (一) 低倍镜的使用方法

1. 准备：打开镜箱，右手握镜臂，左手托镜座，轻轻放于实验台座位偏左侧，镜筒向前，坐着操作。转动粗调节器将镜筒略有升高，转动旋转盘使低倍镜对着载物台的镜台孔，这时应注意将低倍镜上方旋转盘边缘上的缺刻与旋转盘基座上的固定扣相接合，这时可以听到轻微扣碰的声音，说明物镜的光轴已对准镜筒的中心。

2. 对光：打开光阑，上升聚光器，使之与载物台成一平面，用左眼在目镜上观察（要练习两眼同时睁开），同时用手转动反光镜（一般用凹面镜）对着光源，直至镜内呈青白色亮光为止，这时发亮的范围称为视野。

3. 装置玻片标本：将标本有盖玻片的一面向上置于载物台上，用弹簧夹夹住。然后转动推动器螺旋，使要观察的部分对准镜台孔的正中。

4. 调节物距：要清晰地反映标本的物像，镜头与标本要保持一定的距离，距离过远或过近都无法观察到标本的物像。调节物距是刚学使用显微镜时较难掌握的一个步骤，要反复练习。

(1) 先从物镜的侧面注视低倍镜的位置，一手转动粗调节器使低倍镜徐徐下降到距标本0.5cm为止。绝对不可以一面通过目镜观察，一面下降镜筒，这样极有可能使镜头撞碰标本，造成损坏。新式显微镜有时有保险扣板，镜筒下降到一定程度就被止位，但不是每台显微镜都有这种装置，没有这种装置的显微镜则应特别注意合理使用。

(2) 用左眼在目镜中观察视野，同时用左手向上慢慢逆时针转动粗调节器，使镜筒逐渐上升，直至视野中出现清晰的物像为止。如果视野内物像稍有偏斜则可将标本略加移动。

如果标本不在视野中，即使达到物距范围也看不到标本。这时，可注意视野是否出现花纹或颗粒，当出现这种情况时，可稍加移动玻片，如视野中花纹或颗粒也跟着移动，这表示焦点已对准，不过是在玻片外面的盖玻片或玻片的表面上，这时只要稍稍移动玻片，使标本进入视野，然后再用细调节器略为调节即可。如果视野中出现上述花纹和颗粒，但是当移动玻片时，它们不跟着移动，这表示尚未调准物距，所见的花纹和颗粒是目镜或物镜不清晰所致，一般尚要再略为升降才能看清标本。

## (二) 高倍镜的使用方法

1. 依上述操作程序，先在低倍镜下找到物像，将要放大的部分移至视野中央。  
2. 从侧面注视物镜，转动旋转盘，使高倍镜对准通光孔。  
3. 用左眼从目镜上观察，慢慢上下转动细调节器，直到物像清晰为止。如按上述操作仍找不到物像，可能有如下原因：

(1) 目的物不在视野中央。可换回低倍镜，将目的物移至视野中央。  
(2) 玻片是否放反了。应有盖玻片的面朝上，再按上述操作。  
(3) 标本大小或太稀少，在高倍镜下难以寻找，应先在低倍镜下找准后移至中央，再转换高倍镜观察。

(4) 标本色浅或透明，且光太强，应调节聚光器或光阑，减少进光。

当物像清晰时，物镜镜面与标本间的距离称工作距离。物镜放大倍数越高，工作距离越短，反之亦然。

若用高倍镜观察仍不清晰，即为放大倍数太小，要用油镜观察。更换标本时，先移开物镜，再取出或放置标本。

## (三) 油镜的使用方法

1. 使用油镜前，必须先经过低倍镜检查，再转换高倍镜观察，然后再将要放大的部分移至视野的正中位置。

2. 移动高倍镜在观察标本的部位滴一滴香柏油，眼睛注视侧面，转换油镜，使油镜的下端镜面与玻片上的油滴接触。特别注意镜头不能压在标本上，更不能用力过猛，否则不仅压碎镜片，也会损坏镜头。

3. 用左眼观察目镜，进一步调节光线使光线明亮，慢慢上下调动细调节器，直至视野中出现清晰的物像为止。一般情况下，转过油镜即可成像，稍加细调即可使物像清晰。

4. 观察完毕，先上升镜头，把镜头转向旁边，然后用擦镜纸把镜头上的香柏油擦干净，再用擦镜纸沾少许二甲苯轻擦，最后再用干净的擦镜纸擦干净。

5. 有盖玻片的标本，同样用擦镜纸或沾少许二甲苯将盖片上的油擦干净。无盖玻片的

标本（如血涂片）不能擦，以免损坏标本。临时制片因有水分，不能用油镜观察。

### 三、使用显微镜的注意事项

#### （一）操作时应注意的事项

1. 在装置玻片标本之前应特别注意将盖有玻片的一面朝上，切勿反放，如果反放虽然对低倍镜观察并无妨碍，但当转到高倍镜及油镜时，则不但找不到标本的物像，而且会损坏物镜上的透镜及标本。

2. 初步学会在低倍镜及高倍镜下看到标本的物像后，应该进一步学习调节光线，使标本更为清晰。例如对光时应注意光阑开大，并将聚光器升至与载物台平齐。如用低倍镜观察没有染色的活体标本或染色较浅的切片标本时，则应该将光阑关小一点，这样可以使物像更为清晰，能够看到更多的构造。

3. 观察任何标本，应先用低倍镜；如果要用高倍镜观察，则要先在低倍镜下找到标本，将要观察的部分移到视野中央，然后再换高倍镜。如果要用油镜，也要先用低倍镜，再换高倍镜，最后换油镜。

4. 应注意玻片标本移动方向和视野中物像移动方向是不一致的，初学者应多加练习，养成习惯。

5. 使用细调节器时，只允许上下转动半圈到一圈，切勿过多地单向转动。

6. 观察时用左眼较好，但要求练习两眼同时睁开，不能睁一只眼闭一只眼，这是因工作需要较长时间使用显微镜时，可两眼交替使用，减少疲劳。通常用左手调节调节器，右手调节标本推动器和绘图，开始可能不习惯，练习多了就会得心应手了。

#### （二）维护应注意的事项

一架维护得好的显微镜不但便于操作，而且可延长显微镜的寿命。维护的重点是注意防止机械部分的损坏和保持各种透镜的清洁，因为灰尘和蒸汽都会使物像模糊不清，时间一久可以使透镜发霉。

1. 搬动显微镜时应该用右手握镜臂，左手托镜座，平贴胸前，以防碰撞。切勿用一只手斜提，前后摆动，以免碰坏或零部件脱落。

2. 显微镜不可放置在实验桌的边缘，以免碰翻落地。

3. 有些显微镜镜柱与镜臂之间的倾斜关节虽然可以在  $90^\circ$  内倾斜，但当实际操作时，倾斜角度不宜过大，用毕应立即还原，不然会有倾倒的危险。

4. 显微镜用完后，应当立即取下标本，并转动旋转盘，将镜头稍稍斜向一边，不要使任何镜头正对着载物台的中央孔。

5. 水滴、药物等切勿触及镜头与载物台，万一滴入则应立即擦净。

6. 如发现目镜或物镜上沾有灰尘，勿用口吹、手抹或用布揩拭，应用特别专用的擦镜纸揩拭（必要时可沾少许二甲苯）。

7. 平时不要将目镜随意取下，以免灰尘落入物镜。更不要将目镜随意左右转动或上下抽动，这样会使由于摩擦而产生的微屑顺着镜筒而落入物镜内。绝对禁止随意扭开物镜、聚光器或其他零件，以免灰尘落入并防止意外。

### 【作业与思考】

1. 简述显微镜的使用方法。

2. 填充注明光学显微镜各部件的结构名称（图 1-2）。

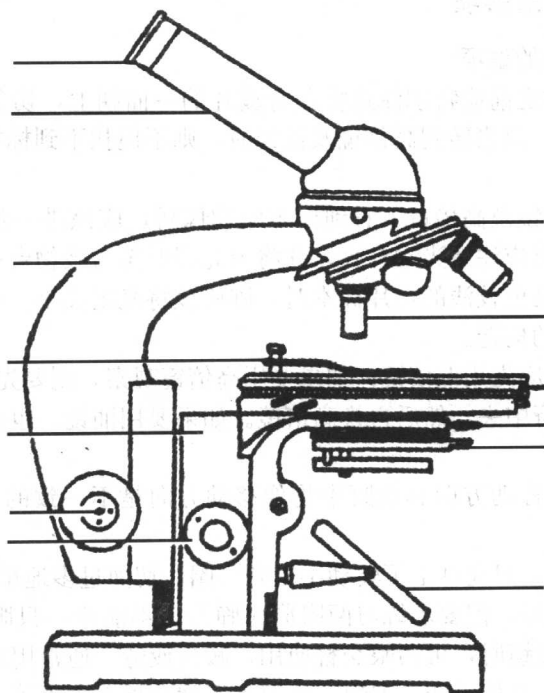


图 1-2 复式光学显微镜（倾斜式）

3. 怎样区分低倍镜、高倍镜和油镜？
4. 为什么要用高倍镜或油镜时，仍要先从低倍镜开始？
5. 要将视野中的物像移向左方，则玻片标本应向何方移动？
6. 根据标本情况怎样调节视野亮度？
7. 经过哪些操作步骤才能在光镜下找到物像？
8. 假如在显微镜下看不到你所要看到的物像，你应该从哪些方面去考虑？
9. 使用显微镜时，出现以下问题应如何解决？
  - (1) 视野内出现窗格、灯罩等影像。
  - (2) 物像大部分或全部偏离视野中心或视野之外。
  - (3) 视野太亮，要稍暗些。
  - (4) 调节物距时，标本物像总是不清晰，似有云雾遮盖。

赵则祥

## 实验二 动植物细胞的结构

### 【目的与要求】

1. 了解细胞的基本结构，比较动、植物细胞的异同。
2. 学习制备血涂片及临时装片的方法。
3. 练习显微镜下绘图的方法。

### 【材料与用品】

洋葱鳞茎、雄蟾蜍。

碘液、瑞氏染液、磷酸缓冲液（ $\text{pH}=6.4\sim 6.8$ ）、蒸馏水、0.85%生理盐水。

光学显微镜、剪刀、镊子、清洁白纱布、吸水纸、载玻片、盖玻片、牙签等。

### 【内容与方法】

在显微镜下观察的标本，有临时性的和永久性的两种。临时性的标本是指在进行实验观察时，临时制备的、不能长期保存的标本。其优点在于方法简便、制备迅速，又能进行活体观察。

制备一个好的显微标本，对初学者来说，清洁载玻片、盖玻片及放置盖玻片的方法，是应熟练掌握的基本操作技术。

抹擦玻片的方法：如果是基本干净的玻片，抹擦前先将载玻片稍加湿润，然后以左手的拇指和食指夹住玻片的两端，右手的拇指和食指夹着一块清洁的小纱布，把玻片放在右手两指夹着的白纱布之间，然后均匀地前后移动抹擦玻片的两面。如果是旧的玻片重新使用，则要经过洗涤剂或特殊洗液浸泡后，再用以上方法抹擦。

盖玻片小而薄，极易破碎，所以抹擦时应特别小心。擦盖玻片时可采用和擦载玻片相似的方法，但手指移动速度要慢、用力要轻且两面要均匀。或者是可将盖玻片放在清洁的玻璃板上，手指按住其边缘，用纱布先擦一面、再擦另一面。

放置盖玻片的方法：先用镊子轻轻夹住盖玻片的一侧，将其对侧边缘先触及载玻片上的水滴，然后再慢慢放平，这样就不会产生气泡。在显微镜下观察气泡的形状，以免把气泡误认为标本。

注意：用显微镜观察含有水液的各种临时装片时，应当将显微镜的载物台放平，以防液体溢出，沾污载物台。

## 一、洋葱表皮细胞

取干净载玻片一块，在中央滴一小滴 2% 碘酒，用镊子在洋葱鳞茎内表面（凹面），轻轻撕取  $2\sim 3\text{mm}^2$  大小的表皮一块，放在载玻片中央的碘酒上铺平展，加上盖玻片，染色 3~5 分钟。如碘液溢出盖玻片，可用吸水纸吸去少许，即成一临时装片。先用低倍镜观察，再换高倍镜观察，可观察到洋葱表皮细胞的结构（图 2-1）。该细胞是六角形，细胞壁被碘酒染成黄色，其内面有极薄的细胞膜，不易看到。在有些出现质壁分离现象的细胞上可以看到细胞膜。细胞核染色较深，为圆形或椭圆形，核内可见到一个或两个核仁。细胞质染色较淡，可见到液泡，呈大小不一的明亮区域。细胞壁和液泡是植物细胞的基本特征。

## 二、口腔粘膜上皮细胞

擦净载玻片和盖玻片。用清水漱口后用牙签轻轻刮取口腔颊部粘膜，将刮取物单向均匀地涂抹在载玻片上（不要来回涂），滴 2% 碘酒染色 3~5 分钟，加盖玻片，先用低倍镜，然后换用高倍镜观察。可看到口腔粘膜上皮细胞的结构，细胞呈鳞状不规则的扁平形，细胞质染色浅呈透明状，细胞核圆形，多位于细胞中央，着色深（图 2-2）。

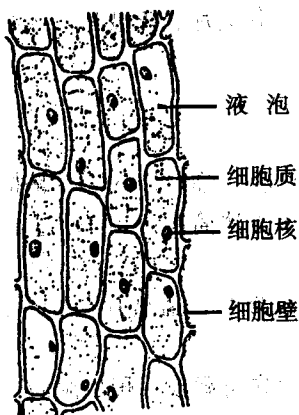


图 2-1 洋葱鳞叶表皮细胞

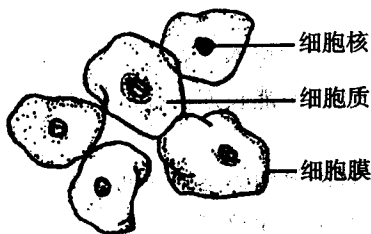


图 2-2 人口腔粘膜上皮细胞

## 三、蟾蜍的血细胞

血片的涂抹与染色的好坏，是观察各种血细胞的重要步骤，故操作时必须认真进行。涂抹血片所用的玻片必须处理成中性和无油腻。

### （一）血片涂片方法

取蟾蜍心脏血，滴于载玻片的一端，用另一载玻片（即推片）以  $30^\circ\sim 45^\circ$  角斜推成薄血膜，推时手法要自然，用力要均匀，血膜厚薄要适宜。推片角度越大，血膜越厚；角度越小，血膜越薄。如血片太厚则细胞重叠不易识别。

### （二）染色

1. 方法及原理：血片一般都用瑞氏染色法，此法简单并且染色效果可靠。瑞氏染料是碱性亚甲蓝（美蓝）与酸性伊红钠盐在水中混合时形成一种溶解性低的中性沉淀物，即为瑞

氏中性沉淀物或称中性粉。中性粉溶解于甲醇后,发生解离,形成酸性染料与碱性染料,染色时因细胞内蛋白质有选择性吸附作用,使细胞内不同性质的蛋白质染上不同的颜色,如嗜酸性粒细胞的颗粒为碱性,故可被酸性染料染成红色,而嗜碱性粒细胞颗粒为酸性,可被碱性染料染成蓝色。中性白细胞的颗粒则吸附酸碱两种染料形成红蓝混合的紫红色。

2. 步骤:①用滴管将染液滴于涂片上,使之盖满整个血膜,固定半分钟后,加1~2倍的磷酸缓冲液(pH6.4~6.8),并轻轻吹匀,染色5~8分钟。(时间因各批材料不同而异,必须每批做一次试验,然后定下所需时间。②用水冲洗后,竖放于置片架上,待干。

3. 染色注意事项:①血片必须自然干燥,不可用火烘,以防细胞变形或烘焦。②染液必须足量,以防甲醇挥发导致染液浓缩而发生沉淀。③冲洗时不可先倾倒染液,应缓缓用水冲去染液。

### (三) 结果观察

先用低倍镜而后换高倍镜观察。在高倍镜下可见到多数细胞为椭圆形且有核,即红细胞,核呈\_\_\_\_色,在红细胞间散在不同类型的白细胞。白细胞的细胞核染成\_\_\_\_色,细胞质染成\_\_\_\_色,你看到染上蓝色、鲜红色、暗紫红色颗粒的各种白细胞了吗?

## 四、蟾蜍的精子

从雄蟾蜍的腹腔内取出一对睾丸,放入装有少量生理盐水的培养皿中,用剪刀剪碎,使精子分离出来,取液体一滴滴于载玻片上,加盖玻片,在低倍镜下可找到如短针状的精子(注意视野调节暗一些),然后转高倍镜观察,可清楚见到具有长锥状头部和细丝状尾部的精子。

## 【作业与思考】

1. 绘制高倍镜下洋葱表皮细胞和人口腔粘膜上皮细胞,并注明细胞各部名称。
2. 绘制高倍镜下蟾蜍的血细胞。
3. 比较动植物细胞的异同。

## 附:瑞氏染液及磷酸缓冲液的配制方法

### 一、瑞氏染液的配制

瑞氏染粉(Wright's stain) 0.1g, 甲醇 60ml。将瑞氏染粉置研钵内,先加适量甲醇,仔细研磨;将已溶解的染液倒入清洁玻璃瓶内,再加入甲醇继续研磨,直至染粉全部溶解;把剩余甲醇全部倒入,过滤后保存于棕色瓶中备用。储放时间越久,则染色效果越好。

### 二、磷酸缓冲液(pH6.4~6.8)配制

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  4.6g, 无水  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  4.7g, 加蒸馏水至 1000ml。

# 实验三 细胞器的观察

## 【目的与要求】

1. 通过超活染色和切片标本的观察，掌握光镜下几种细胞器的形态和分布。
2. 了解超活染色和线粒体、高尔基体切片染色显示的原理。
3. 学会油镜的使用，训练掌握光学显微镜的使用及镜下绘图。

## 【材料与用品】

光学显微镜、载玻片、消毒牙签、吸水纸、镊子、中性红-詹纳斯绿 B 染液。  
蛙肾切片、豚鼠脊神经节切片、马蛔虫子宫切片。

## 【内容与方法】

### 一、线粒体的超活染色和观察

#### (一) 人口腔上皮细胞双重超活染色显示线粒体

超活染色又称体外活体染色，是指使已离体的或刚被杀死的生物体内的活细胞保持生活状态，再用活体染料进行染色的一种方法。而詹纳斯绿 B 可专一性地对线粒体进行超活染色。这是由于线粒体内的细胞色素氧化酶系的作用，使詹纳斯绿 B 染料始终保持氧化状态（即有色状态），呈蓝绿色；而线粒体周围的细胞质中詹纳斯绿 B 被还原成无色的化合物。当与中性红结合使用，进行双重超活染色，能使线粒体显示得更清楚。

1. 将载玻片（应十分清洁）平放在桌上，滴数滴中性红-詹纳斯绿 B 混合染液于载玻片中央，让其中的酒精蒸发掉。

2. 用消毒牙签的钝端在自己口腔颊粘膜处稍用力刮取少许口腔上皮细胞，均匀地涂布在载玻片上的染液中，很快将盖玻片盖上，四周溢出的染液用吸水纸吸干，在盖片的边缘涂上一圈无色的指甲油以防蒸发。

3. 5 分钟后用显微镜观察，在高倍镜或油镜下可见在被染成浅红色的口腔上皮细胞的胞质中，特别是在细胞核周围，分布着许多被染成亮绿色的颗粒状和短杆状的结构，即为线粒体。

#### (二) 观察肾小管上皮细胞的线粒体——蛙肾小管切片

蛙肾小管上皮细胞功能活跃，线粒体的数目较多。蛙肾组织以重铬酸钾固定，再经铁苏木精染色，制成永久切片。由于线粒体中蛋白质、磷脂的含量很高，含有大量的羧基和磷酸基等阴离子基团，带阳离子的铁苏木精就很容易与其结合而着色，使线粒体得以完全显露出来。

将蛙肾切片标本置于低倍镜下观察，可见有许多被染成深蓝色的圆形和椭圆形的环状结构，这些就是肾小管的横切面。每一肾小管的管壁是由单层紧密排列的上皮细胞围成，中间的腔为肾小管管腔。转换成高倍镜和油镜仔细观察可见细胞中央不着色的圆形区是细胞核，内有一至多个被染成蓝色的核仁。细胞之间的细胞膜难以分辨。细胞质中有许多蓝黑色的短杆状和颗粒状的线粒体，靠管腔部分较少，细胞基部特别多。(图 3-1)

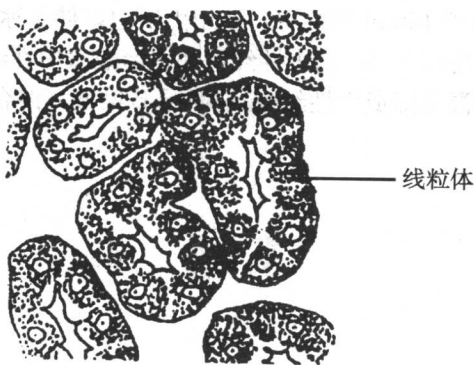


图 3-1 蛙肾小管横切 (示线粒体)

## 二、高尔基体的观察——豚鼠脊神经节 (或麻雀小脑) 切片

豚鼠脊神经节 (或麻雀小脑) 以硝酸钴固定，再经硝酸银染液浸染制成永久切片。由于组成高尔基体的物质具有还原银盐的能力，使其呈现黑色沉淀，从而能显示出高尔基体的形态和位置。

将豚鼠脊神经节 (或麻雀小脑) 切片置于低倍镜下观察，可见有许多卵圆形 (或梨形) 的神经细胞胞体；转换成高倍镜观察，可见有些神经细胞胞体的中央有着不着色的圆形区为细胞核，有的细胞核中还可见到一个淡黄色的核仁。在核的周围细胞质中，有许多黑褐色的颗粒、斑块和扭曲状条索构成的粗网状结构，即为高尔基体。

## 三、中心体的观察——马蛔虫子宫切片

中心体是微管组成的细胞器，在细胞处于分裂时易于观察，在高倍镜下可见，处于分裂中期的马蛔虫受精卵细胞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。在中心粒周围呈透亮区的部分为中心球。两者构成中心体，其外围有许多放射状分布的细丝——星射线，合称星体。

### 【作业与思考】

1. 细胞内有多种细胞器，为什么我们所观察的每种玻片标本往往只能见到某一细胞器分布在胞质中？为什么所见的形态结构和电镜照片不同？

2. 在观察豚鼠神经节 (或麻雀小脑) 切片时，可见有的细胞中央没有细胞核，只有高尔基体分布，这是为什么？