



普通高等教育“十三五”规划教材
“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材配套教材

供基础、临床、口腔、护理、预防、中西医、检验、
法医、麻醉及影像等专业使用

医学生物学与 医学细胞生物学实验教程

(第3版)

杨春蕾 蔡晓明 主编



科学出版社

普通高等教育“十三五”规划教材

“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材配套教材

供基础、临床、口腔、护理、预防、中西医、检验、
法医、麻醉及影像等专业使用

医学生物学与医学细胞生物学 实验教程

第3版

主 编 杨春蕾 蔡晓明



科学出版社

北京

内 容 简 介

《医学生物学与医学细胞生物学实验教程》第3版一书是普通高等教育“十一五”国家级规划教材《医学生物学》第9版和“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材《医学细胞生物学》第8版的配套教材。全书共有25个实验，其中既有巩固和强化基础知识、基本理论及基本技能训练的实验，也有部分着重培养学生能力的综合性、探索性及创新性实验。

本书可用于医学类各专业本科生的医学生物学和医学细胞生物学课程的实验教材，也可用于相关专业研究生的医学细胞生物学实验课程教材，还可作为从事相关领域研究的科技工作者的参考书。

图书在版编目（CIP）数据

医学生物学与医学细胞生物学实验教程 / 杨春蕾, 蔡晓明主编. —3 版.
—北京：科学出版社，2019.7
普通高等教育“十三五”规划教材 “十二五”普通高等教育本科国家级规划教材配套教材

ISBN 978-7-03-061469-8

I. ①医… II. ①杨… ②蔡… III. ①医学—生物学—实验—高等学校—教材
②医学—细胞生物学—实验—高等学校—教材 IV. ①R318-33 ②R329.2-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2019）第 108730 号

责任编辑：刘畅 / 责任校对：严娜

责任印制：师艳茹 / 封面设计：铭轩堂

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>

北京市文林印务有限公司 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：720×1000 1/16

2014年6月第 二 版 印张：8 1/2

2019年6月第 三 版 2019年7月第一次印刷

字数：230 000

定价：29.00 元

（如有印装质量问题，我社负责调换）

《医学生物学与医学细胞生物学实验教程》(第3版)

编委会名单

主编 杨春蕾 蔡晓明

副主编 许 勇 李学英

编 委 (按编写顺序排列)

蔡晓明 宋桂芹 王 婕 杨俊宝 许 勇 付 雯

李学英 张志敏 杨明理 章 欢 牛 蓓 杨春蕾

申跃武 陈保锋 杨 军 杨 或 陈 康 申重阳

孟亚鹏 熊 莉 刘 云

第三版前言

众所周知，医学生物学和医学细胞生物学均是实践性很强的学科，而且这两门课程联系非常紧密。为了加强实验课程教学，培养学生的动手能力，提高学生的综合素质，我们邀请了几所兄弟院校中具有丰富实验教学经验的教师共同编写了本书，其与普通高等教育“十一五”国家级规划教材《医学生物学》第9版和“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材《医学细胞生物学》第8版配套使用。

本书是在李虹和梁素华主编的《医学生物学与医学细胞生物学实验教程》(第2版)的基础上修订而成。我们根据大部分院校开设的实验内容，增加了部分新的实验，精选了25个适合医学生物学和医学细胞生物学两门课程的实验，使其成为极具特点和实用性较强的实验教程。其中既有巩固和强化基础知识、基本理论及基本技能训练的实验，也有部分着重培养学生能力的综合性、探索性及创新性实验。本书强调实验的可操作性，鉴于各校在教学时数和教学实验条件上不尽相同，使用时可根据各自的需要选择书中的实验项目。

参加本书编写的单位有四川大学、成都中医药大学、川北医学院、遵义医科大学、成都大学等院校。

本套教材配套有数字教学资源，包括实验作业或思考题的参考答案，实验结果及讨论。本书出版得到了各编写单位的大力支持，同时也得到了科学出版社刘畅编辑的大力支持与帮助，四川大学熊莉老师提供了多张实验照片，在此表示诚挚的谢意。

虽然编者对本书的编写花费了不少精力，但由于能力有限，加之时间仓促，不足之处在所难免，恳请使用本书的老师和同学提出宝贵意见，以使本实验教程日臻完善。

杨春蕾 蔡晓明

2019年1月

第一版前言

众所周知，医学生物学和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、郭凤劲、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扶华教授的悉心指导，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

实验规则

医学生物学与医学细胞生物学是医学专业的两门基础主干课程，均由理论教学和实验教学两大部分组成。学生可以通过实验理论联系实际，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。为了保证实验课的学习效果，学生在进行医学生物学与医学细胞生物学实验时，必须自觉遵守以下规则。

1. 实验课前要预习实验内容，明确本次实验的目的、要求及基本原理，熟悉实验内容和方法。
2. 实验课时必须携带实验教程、记录本、绘图纸、实验报告纸、铅笔、直尺等。
3. 进入实验室后，学生应对号入座，对已排定的座位和配备的实验设备不得随意调换。上课时学生应认真听老师讲授，了解本次实验的内容及注意事项。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。
4. 实验中要仔细观察和认真操作，不得违反操作规则，同时要做好记录，按时完成实验报告。
5. 遵守课堂纪律，保持安静，不得无故缺席、迟到或早退。
6. 培养良好的爱护国家财产的社会公德，爱惜实验仪器设备，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。
7. 实验完毕后，应将用过的实验用具、实验台等擦洗干净，打扫卫生，关好水、电、门、窗后，方可离去。

目 录

第三版前言

第一版前言

实验规则

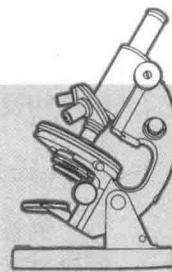
实验一 光学显微镜的构造及使用方法	1
实验二 光学显微镜下的细胞形态结构观察	10
实验三 核酸成分的检测	16
实验四 细胞器及细胞骨架标本的制备与观察	19
实验五 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬活动观察	24
实验六 细胞膜通透性的观察	27
实验七 细胞核的分离与鉴定	30
实验八 细胞有丝分裂标本的制备与观察	32
实验九 细胞减数分裂标本的制备与观察	36
实验十 小鼠骨髓细胞染色体标本的制备与观察	41
实验十一 人外周血淋巴细胞染色体标本的制备与观察	44
实验十二 染色体 G 显带及 SCE 标本的制备与观察	48
实验十三 人体细胞染色体 G 显带核型分析	52
实验十四 动物细胞的原代培养	58
实验十五 培养细胞的传代及冻存复苏	63
实验十六 培养细胞的活力测定	68
实验十七 动物细胞融合	71
实验十八 染色体提前凝聚的诱导与观察	74
实验十九 流式细胞术	78
实验二十 细胞凋亡的诱导与检测	84

实验二十一	人类性染色质检测及几种遗传性状的分析	90
实验二十二	肿瘤细胞特异性骨架蛋白的显示	95
实验二十三	细胞衰老的诱导及 β -半乳糖苷酶的检测	98
实验二十四	人类遗传病家系分析	102
实验二十五	家兔解剖	106

附 图

实验一

光学显微镜的构造 及使用方法



实验目的

1. 掌握光学显微镜的基本结构和功能。
2. 熟悉光学显微镜的正确使用方法。
3. 了解光学显微镜的维护方法。

实验用品

一、器材

普通光学显微镜、特殊光学显微镜、擦镜纸。

二、材料

家兔肌肉、肝脏、肾脏或蛙鳞状上皮等切片标本。

显微镜类型

一、光学显微镜

(一) 普通光学显微镜

普通光学显微镜 (ordinary light microscope, OLM) 是目前应用最广泛的显微镜，分辨率可达 $0.2\mu\text{m}$ ，放大倍数多为 500~1000 倍。常用于观察肉眼不能分辨的细微结构，如细胞的一般形态结构，可看到细胞核、核仁、线粒体、中心体、高尔基复合体及染色体等结构。

(二) 暗视野显微镜

暗视野显微镜 (dark field microscope) 是在普通光学显微镜的基础上改造而来，使用中央遮光板或暗视野集光器，使照明光线不能直接进入物镜，只允许被标本反射和衍射的光线进入物镜，故视野背景是暗的，物体边缘是亮的。暗视野

显微镜能观察到 4~200nm 的微小粒子，一般用于观察微小生物的运动、活细胞的结构及细胞内微粒的运动等。

(三) 倒置显微镜

倒置显微镜 (inverted microscope) 的物镜位于标本下方，光源位于标本上方。该种显微镜主要用于观察培养细胞等活体标本。

(四) 相差显微镜

相差显微镜 (phase contrast microscope) 是利用光的衍射和干涉原理，在光学系统中有一套特殊装置（如环状光圈和相板的物镜等），能调整直射光或衍射光的相位，使观察标本的各部分明暗反差增大，把人类肉眼看不到的相差变为明暗的振幅差，以利于观察活体标本或未染色的细微结构。

(五) 荧光显微镜

荧光显微镜 (fluorescence microscope) 是由荧光光源、荧光镜组件、滤板系统、光学系统等部件组成。它利用高发光效率的点光源，经过滤色系统发出一定波长的光作为激发光，激发检测标本内的荧光物质，通过物镜和目镜放大以观察标本的荧光图像。细胞内含有少量维生素、核黄素等天然荧光物质，同时也可以将细胞中的某些成分与酸性品红、甲基绿、吖啶橙等荧光物质结合，以便观察分析物质在细胞内的分布位置、细胞的结构及功能等。

(六) 激光扫描共聚焦显微镜

激光扫描共聚焦显微镜 (confocal laser scanning microscope, CLSM) 是利用激光束经照明针孔形成点光源对标本内焦平面的每一点进行扫描，标本上的被照射点在探测针孔处成像，并迅速在计算机监视器屏幕上形成荧光图像。同时，在显微镜载物台上有微量步进马达，根据需要可使载物台（标本）步进移动，因此标本的各个横断面图像均能清晰地显示，通过计算机图像信息处理可对标本三维重建，在亚细胞水平可观察生理信号及细胞形态变化。激光扫描共聚焦显微镜可用于观察活体胚胎，大脑皮层内微循环，细胞内的网络结构如内膜系统、细胞骨架及原位染色体等。

(七) 摄影显微镜

摄影显微镜 (video microscope) 又叫智能显微镜，它是将普通光学显微镜与彩色高分辨摄像头、高保真录像机及彩色监视器结合制成，使显微镜视野中所观察的标本细微结构真实、有效地记录下来，便于分析标本的动态变化过程。若配上彩色高分辨数码相机、高清晰度彩色打印机，就可在观察标本的同时得到高清

晰度图片。

二、电子显微镜

电子显微镜是一类根据电子光学原理，用电子束和电磁透镜代替光束和光学透镜，观察物质的超微结构乃至原子图像的仪器。1931年，德国科学家克诺尔和卢斯卡发明了第一台电子显微镜（electron microscope）。1939年，西门子公司制造出分辨率达3nm的世界上最早的实用电子显微镜。电子显微镜经过改进和发展，已成为生命科学、物理、化学和材料科学等领域的重要研究工具。目前最常用的是透射电子显微镜和扫描电子显微镜。

（一）透射电子显微镜

透射电子显微镜（transmission electron microscope, TEM）的光路与普通光学显微镜相仿，可以看到在光学显微镜下无法看清的小于0.2nm的细微结构，放大倍数可从几十倍连续变化到几十万倍。透射电子显微镜是由电子枪发射的高速电子束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）放大，最后将高度放大的图像显示在荧光屏上或记录在照相装置中。透射电子显微镜样品的制作较为关键，包括取材、固定、脱水、浸透、包埋聚合、超薄切片（一般厚度为50~80nm）、染色等步骤。

（二）扫描电子显微镜

扫描电子显微镜（scanning electron microscope, SEM）也是利用高能电子束充当光源的大型显微分析设备。扫描电子显微镜的高速电子束并不穿过样品，仅作用于样品表面，在样品表面进行逐点逐行的光栅扫描。扫描电子显微镜配有电子信息检测器，可检测样品表面被电子探针激发的不同电子信号，在获取到样品表面结构形貌特征或化学组成信息后，经信号放大，呈现在显像屏上。

扫描电子显微镜由电子光学系统、信号接收转换系统、图像显示记录系统组成。其样品制备包括材料的表面清洁、固定、脱水、干燥、导电处理等步骤。因扫描电子显微镜注重样品表面形貌观察，具有很强的立体感和三维效果。

普通光学显微镜的基本结构和功能

普通光学显微镜是最常用的一种光学显微仪器，在医学教学、科研及临床工作中使用的普通光学显微镜有直立式和倾斜式（图1-1）两类，均由机械部分、照明部分及光学部分组成。



图 1-1 光学显微镜结构示意图

一、机械部分

(一) 镜座

镜座位于显微镜的最下方，是显微镜的基座，起支持和稳定镜体的作用。

(二) 镜柱

镜柱是与镜座和镜臂相连的垂直结构，其上装有调焦装置。

(三) 调焦装置

调焦装置位于镜柱上，呈同心圆式排列，包括粗调焦旋钮和细调焦旋钮。调焦装置的功能是调节焦距，粗调焦旋钮可使镜台较快速度地升降，旋转一圈可使载物台升降 10mm，适用于低倍镜调焦；细调焦旋钮可使镜台缓慢升降，旋转一圈可使载物台升降 0.1mm，用作较精细的调节，适用于高倍镜、油镜和分辨物像清晰度调焦。

(四) 镜臂

镜臂支撑镜筒和载物台，是手握提显微镜的结构，位于镜柱上方，略呈弓形。

(五) 镜筒

镜筒是位于镜臂上方的圆筒，上端安装目镜，下端连接物镜转换器。光镜镜

筒分单筒式(可分直立式和倾斜式)和双筒式两种，目前多为倾斜式双筒式镜筒。国际上显微镜标准镜筒长度为160mm。

(六) 物镜转换器

物镜转换器装在镜筒下方，呈圆盘状，有3~4个物镜螺旋口，可安装不同放大倍数的物镜。物镜应按放大倍数高低顺序依次排列，旋转物镜转换器时，不应用手指推动物镜，因为长时间推动物镜容易使光轴歪斜，影响成像质量。

(七) 载物台

载物台是位于镜臂前方的方形或圆形平台，用以放置玻片标本。方形载物台面积一般为120mm×110mm，中央有一通光孔，载物台上装有标本夹和推片器，既可固定标本又可前后左右移动，推片器上有纵横游标尺，可利用游标尺上的刻度作为标记，以便寻找物像，也可用于测量标本的大小。

二、照明部分

显微镜的照明装置由光源、反光镜、聚光器和光圈等部分组成。

(一) 光源

显微镜有自带光源和不带光源两种。前者采用电光源照明，电光源灯一般装在镜座内或镜座后的灯壳中，可以使用镜座侧面的调光旋钮调节光源强度；后者采用自然光源或人工外光源照明。

(二) 反光镜

反光镜(mirror)装在镜座上，可向各个方向转动，是一个可随意转动的双面镜，把光线反射入聚光镜。反光镜的一面是平面镜，另一面是凹面镜。平面镜具有反射光线能力，一般在较强光线时使用。凹面镜既有反光作用也有聚光能力，适用于较弱光和散射光。内置光源的光学显微镜不需要反光镜。

(三) 聚光器

聚光器位于通光孔下方的聚光器支架上，由一组透镜组成，可使反光镜反射的光线或内置光源发出来的光线集中于标本上，起汇聚光线的作用。在镜柱的左侧面有一聚光器升降螺旋，可使聚光器升降。聚光器上升时光线增强，下降时光线减弱。一般聚光镜的焦点在其上方1.25mm处。

(四) 光圈

光圈(diaphragm)又叫可变光阑，位于聚光器下方，由十几张金属薄片组成，

中心部分形成圆孔，可调节光强度，使聚光镜的数值孔径与物镜的数值孔径相适应。侧面有一光阑小柄，拨动小柄可使光圈扩大或缩小，以调节进光量。

三、光学部分

(一) 目镜

目镜 (ocular) 安装在镜筒的上端，由上下两组透镜组成。目镜上刻有 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $40\times$ 等符号，表示其放大倍数。有的目镜筒内安置有一指针，用于指示视野中观察物像的部位，以利示教和提问。

(二) 物镜

物镜 (objective) 装在物镜转换器下方，是决定显微镜性能的重要部件，根据物镜与被检标本之间的介质不同可分为干燥物镜、浸液物镜，依放大倍数不同分为低倍镜、高倍镜和油镜。低倍镜短，数值孔径一般为 0.25，放大倍数一般为 $10\times$ ；高倍镜较长，数值孔径一般为 0.65，放大倍数为 $40\times$ 、 $45\times$ 或 $60\times$ ；油镜最长，数值孔径一般为 1.25，放大倍数为 $100\times$ 。通常在物镜上刻有相应的标记，如在 10 倍的物镜上刻有 $10/0.25$ 和 $160/0.17$ 。 10 表示物镜放大倍数， 0.25 表示镜口率， 160 表示镜筒长度， 0.17 表示盖玻片厚度，两者的单位均为毫米。

镜口率又称数值孔径 (numerical aperture, NA)，可反映物镜分辨力的大小，数字越大表示分辨力越高，一般 $10\times$ 物镜的 NA 为 0.25， $40\times$ 物镜的 NA 为 0.65， $100\times$ 物镜的 NA 为 1.25 ($NA=n \cdot \sin\theta$ ，其中 n 为介质的折射率， $\sin\theta$ 为透镜视锥半顶角的正弦值)。

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 $100\times$ ，则放大倍数为 $10 \times 100 = 1000$ 倍。

光学显微镜的使用方法

在使用显微镜时，应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，距离实验台边缘 $6\sim10\text{cm}$ 处为宜。直立式显微镜可使用倾斜关节，让镜筒略向自己倾斜（不能超过 45° ）以便观察。

一、低倍镜的使用

(一) 对光

先转动粗调焦旋钮使镜筒升高，再旋转物镜转换器使低倍镜对准通光孔（可听到轻微的咔哒声）。然后打开光圈，上升聚光器，双眼睁开，左眼对准目镜观察，双手并用，左手调焦，右手移片或绘图。转动反光镜，直到视野内光线明亮均匀。

带有内置光源的显微镜直接打开光源开关，旋转调光旋钮。

(二) 放标本

取一张玻片标本，认清标本的正反面，将正面朝上，用标本夹固定标本，然后移动玻片，将要观察的标本对准通光孔的中央。

(三) 调焦

从侧面注视低倍镜物镜，转动粗调焦旋钮使低倍镜距玻片标本约 0.5cm。然后用左眼观察视野，向相反的方向缓慢转动粗调焦旋钮，使低倍镜慢慢上升，当视野中出现物像时再用细调焦旋钮调节，直到物像清晰为止。

如果按上述操作步骤仍看不到物像时，可能有以下原因：①转动粗调螺旋太快，超过焦点，应按上述步骤重新调节焦距；②物镜没有对正，视野黑暗，应对正后再观察；③标本没有放到视野内，应移动标本寻找观察对象；④光线太强，特别是观察透明标本或没有染色的标本时容易出现这种现象，应将光线调暗一些之后再行观察。

二、高倍镜的使用

1. 先在低倍镜下找到物像，然后将要放大观察的部分移至视野正中央，并调清晰。

2. 从侧面注视，移走低倍镜转换高倍镜。

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旋钮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旋钮，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：①目的物不在视野中，可能是低倍镜下没有将其移至视野正中；②低倍镜的焦距是否调好；③玻片标本是否放反；④物镜是否松动或有污物。

三、油镜的使用

1. 在高倍镜下将拟用油镜观察的目的物移至视野正中央。

2. 调节聚光器和光圈，选择最适光线。

3. 旋转物镜转换器移走高倍镜，眼睛注视侧面，在欲观察玻片标本的部位上滴一滴香柏油，转换油镜使油镜镜头浸在油滴中。

4. 一般情况下，转过油镜即可看到物像，若不清楚，可慢慢上下转动细调焦旋钮直至出现清晰的物像。

5. 观察完毕，下降载物台，将油镜转出，先用擦镜纸擦去镜头上的油，再用擦镜纸蘸少许清洗剂或二甲苯擦去镜头上残留的油迹，再用干净拭镜纸擦净。

- 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。

四、显微镜还原

显微镜使用完毕，应将各部分还原，取出标本，转动物镜转换器，使物镜镜头不与通光孔相对，下降镜筒，保护好光学和照明系统，清洁好机械部分，放回柜内或镜箱。

标本的观察与操作练习

取待观察（如家兔肌肉、肝脏、肾脏或蛙鳞状上皮等）切片标本，按照上述显微镜的正确使用方法，反复练习低倍镜和高倍镜的使用，为以后的实验打好基础。



作业与思考

- 怎样区分低倍镜、高倍镜和油镜？错用物镜可能会造成什么后果？
- 如何调节视野内的光线强度？
- 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？
- 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？
- 在转动细调焦旋钮时，若已达极限不能转动应该采取什么措施？



【附】使用显微镜的注意事项

扫一扫 看答案

- 取放显微镜时，注意要轻拿轻放，一定要一手握镜臂，一手托镜座，切勿单手斜提，以免碰坏显微镜或造成零部件脱落。
- 显微镜不可放置在实验台边缘，以防碰翻落地。
- 使用前要检查，若发现缺损或使用时损坏，应立即报告指导教师。
- 放置玻片标本时应将有盖玻片的一面向上，否则在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。临时制片要加盖玻片，由于含有水分，易于流动，镜台需平放。观察永久性玻片标本时，倾斜关节不得超过45°，若因事需离开座位，必须将倾斜关节复原。
- 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。
- 使用显微镜时，应该养成正确的操作习惯，两眼睁开，两手并用，边观察、边记录、边绘图。