

高等医学院校实验教程

医学细胞生物学与遗传学 实验教程

主编 乔远东 卜晓波 朱金玲



YZLI0890079205

北京大学医学出版社

高等医学院校实验教程

医学细胞生物学与遗传学实验教程

主 编 乔远东 卜晓波 朱金玲
 副主编 楚玉荣 刘 爽
 编 委 (按姓氏拼音排序)

白 冰 (哈尔滨医科大学)	卜晓波 (牡丹江医学院)
楚玉荣 (哈尔滨医科大学)	韩彦龙 (牡丹江医学院)
李 杰 (内蒙古医学院)	刘 爽 (佳木斯大学)
乔远东 (哈尔滨医科大学)	宋 洁 (牡丹江医学院)
王春涛 (牡丹江医学院)	张 虎 (佳木斯大学)
张金波 (佳木斯大学)	赵春艳 (哈尔滨医科大学)
郑立红 (齐齐哈尔医学院)	朱金玲 (佳木斯大学)



YZLI0890079205

北京大学医学出版社

YIXUE XIBAO SHENGWUXUE YU YICHUANXUE SHIYAN JIAOCHENG

图书在版编目 (CIP) 数据

医学细胞生物学与遗传学实验教程/乔远东, 卜晓波, 朱金玲主编. —北京: 北京大学医学出版社, 2010. 9

ISBN 978-7-81116-987-4

I. ①医… II. ①乔… ②卜… ③朱… III. ①人体细胞学: 细胞生物学—实验—医学院校—教材②医学遗传学—实验—医学院校—教材 IV. ①R329. 2—33②R394—33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 161536 号



医学细胞生物学与遗传学实验教程

主 编: 乔远东 卜晓波 朱金玲

出版发行: 北京大学医学出版社 (电话: 010-82802230)

地 址: (100191) 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

印 刷: 北京瑞达方舟印务有限公司

经 销: 新华书店

责任编辑: 陈 奋 责任校对: 金彤之 责任印制: 张京生

开 本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 9.25 字数: 230 千字

版 次: 2010 年 9 月第 1 版 2010 年 9 月第 1 次印刷 印数: 1—8000 册

书 号: ISBN 978-7-81116-987-4

定 价: 16.00 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)

高等医学院校实验教程编审委员会

主任委员 程德基

副主任委员 (按姓氏拼音排序)

崔光成 关利新 乔远东 魏晓东 毅 和

委 员 (按姓氏拼音排序)

卜晓波 陈志伟 李艳君 梁 军 林雪松
刘 星 刘伯阳 刘东璞 刘文忠 马淑霞
马小茹 欧 芹 沈晓玲 宋印利 孙宏丽
田国忠 新 燕 云长海 张 涛 张晓莉
张振涛 朱金玲

前 言

医学细胞生物学和医学遗传学作为生命科学的前沿学科，近年来得到了突飞猛进的发展，其作用和地位日益突显。其新技术、新方法、新概念层出不穷，许多新技术已经应用于临床医疗实践，并带动了临床医学各个学科的发展。医学细胞生物学和医学遗传学均为医学院校的重要专业基础课，具有很强的实践性。为了适应自然科学的发展及现代医学教育改革，根据医学细胞生物学与医学遗传学本科教学大纲的要求，按照当前学科发展特点和卫生部对医疗卫生和教育系统科学发展要注重培养高素质复合型医药卫生人才的总体要求，编写组在总结前人工作经验的基础上，广泛吸收国内外同类院校的先进教学理念，经过充分酝酿、讨论和准备，组织编写了《医学细胞生物学与遗传学实验教程》。

本教程基于教育部制定的“中国本科医学教育标准”，核心是对医学细胞生物学和医学遗传学的实验项目进行整合，突出经典实验内容和基本实验技能培养，可与《医学细胞生物学》和《医学遗传学》等主教材配套使用。本教程由绪论、基础篇和应用篇三个部分组成。全书共编入 35 个实验项目，每个实验项目的实验目的、实验原理、实验对象、实验用品、实验内容和步骤、注意事项、应用领域及试剂配制等均有较充分的阐述，便于学生理解和操作，有助于培养学生的动手能力；并附有思考题、实验相关小资料等，有助于培养学生独立观察问题、分析问题和解决问题的能力，加深学生对理论知识的理解和记忆，理论与实践相结合，学以致用，从而达到更好的教学效果。附录中列入了实验所用试剂浓度的表示法、换算及专业英语词汇，并特别收录了一些相关专业网站。

鉴于目前各院校开设的课程不尽相同，有的分别开设医学细胞生物学和医学遗传学，有的仅开设医学生物学，但医学细胞生物学和医学遗传学仍是其主要内容。同时，考虑到各院校教学时数的差异，在实验项目的选择上，更注重各院校的实际条件，并且兼顾基础和临床两个方面，涵盖了细胞生物学与遗传学的多种实验技术和方法，设计了综合性应用性实验，从细胞生物学和遗传学的角度分析医学问题，以培养学生的科研思维和创新的能力，为学生今后走向科研及临床工作岗位奠定基础。本教程主要针对高等医学院校本科学生的实验教学而编写，其中部分实验适用于七年制学生和研究生实验教学，也可作为医药卫生专业各层次的教师、临床医护人员和科研人员的参考书。

本教程由哈尔滨医科大学、佳木斯大学、牡丹江医学院、齐齐哈尔医学院和内蒙古医学院五所院校共同合作编写，在编写过程中得到了各院校领导、老师及相关部门的大力支持，在出版方面得到了北京大学医学出版社的大力支持和帮助，在此一并表示衷心的感谢。

由于我们的知识水平和写作能力有限，编写过程中难免出现不足甚至错误，希望使用本书的老师和同学提出宝贵意见，以便在修订时加以改进。

乔远东

2010年7月

目 录

第一篇 绪 论

实验须知	1
实验报告	3

第二篇 基础篇

第一部分 医学细胞生物学实验

实验一 普通光学显微镜的结构和使用	5
实验二 细胞的基本形态结构与显微测量	9
实验三 细胞器的观察	11
实验四 细胞骨架超微结构的观察	13
实验五 细胞化学成分的显示	16
实验六 细胞的生理活动观察	18
实验七 细胞分裂观察	21
实验八 细胞核与线粒体的分级分离	25
实验九 人染色体核仁形成区的银染显示	28
实验十 早熟染色体凝集标本的制备及观察	30
实验十一 细胞的原代培养和传代培养	34
实验十二 培养细胞的冻存与复苏	40
实验十三 培养细胞的形态观察和计数	43
实验十四 细胞融合	48
实验十五 流式细胞术及其应用	52

第二部分 医学遗传学实验

实验十六 人类性染色质标本的制备和观察	55
实验十七 人类染色体 G 显带技术及观察	58
实验十八 人类染色体 G 显带核型分析	62
实验十九 姐妹染色单体交换标本的制备	68
实验二十 人类基因组 DNA 提取	71
实验二十一 聚合酶链反应	75
实验二十二 DNA 酶解片段的电泳分离技术	78
实验二十三 PCR-RFLP 分析技术	81
实验二十四 PCR-SSCP 技术	85
实验二十五 DNA 分子杂交	88

实验二十六	cDNA 文库的构建	90
实验二十七	荧光原位杂交技术	94
实验二十八	比较基因组杂交	96

第三篇 应用篇

实验二十九	遗传病的系谱分析和遗传咨询	99
实验三十	人类遗传性状的调查	101
实验三十一	人类外周血淋巴细胞的培养及染色体标本制备	105
实验三十二	人类皮肤纹理分析	113
实验三十三	脆性 X 家系分析与产前诊断	118
实验三十四	21 三体先天愚型的产前诊断	124
实验三十五	苯丙酮尿症的诊断与方法	128

附录一	试剂浓度的表示法及其计算	132
附录二	英文缩写符号与英中名词对照表	134
附录三	常用专业网站	136
参考文献	137

附录四 实验学计数学图 台器二差

1	138
2	139
3	140
4	141
5	142
6	143
7	144
8	145
9	146
10	147
11	148
12	149
13	150
14	151
15	152
16	153
17	154
18	155
19	156
20	157
21	158
22	159
23	160
24	161
25	162
26	163
27	164
28	165
29	166
30	167
31	168
32	169
33	170
34	171
35	172
36	173
37	174
38	175
39	176
40	177
41	178
42	179
43	180
44	181
45	182
46	183
47	184
48	185
49	186
50	187
51	188
52	189
53	190
54	191
55	192
56	193
57	194
58	195
59	196
60	197
61	198
62	199
63	200
64	201
65	202
66	203
67	204
68	205
69	206
70	207
71	208
72	209
73	210
74	211
75	212
76	213
77	214
78	215
79	216
80	217
81	218
82	219
83	220
84	221
85	222
86	223
87	224
88	225
89	226
90	227
91	228
92	229
93	230
94	231
95	232
96	233
97	234
98	235
99	236
100	237

第一篇 绪论

实验须知

一、实验目的

医学细胞生物学与遗传学实验是教学的一个重要环节。实验课有助于学生巩固和加深对基础理论知识的理解和掌握,并有利于学生了解和掌握本学科的基本实验内容和操作技能。通过实验,培养学生独立思考、独立工作、观察、分析和解决问题的能力;培养实事求是、严肃认真的科学态度以及勤俭节约、爱护公物的良好作风。

二、实验规则

为了上好实验课,达到预期目的,并保证安全,特提出如下规则:

1. 每次实验前必须对实验内容进行充分预习,了解实验目的、原理、方法和步骤,做到心中有数,思路清楚。对比较复杂的实验,应写出简要的预习报告。
2. 课前预先分好实验小组,每组推选组长一人。上课时,必须携带实验教程、实验报告纸和文具,穿实验服、戴鞋套,按规定座位入座。
3. 严格遵守实验室规则,按时到达实验室,不得迟到、早退或无故缺席,有病或有事需请假时,应向任课教师报告。
4. 进入实验室,要听从教师指导,保持肃静,遵守纪律,令行禁止。有问题需举手提问,严禁喧哗打闹、随意走动。维持室内的公共卫生,不做与实验无关的事。
5. 实验前,必须认真检查所用仪器、药品、试剂、材料等是否完好、齐备,如有缺损,应立即向老师报告,不得自行随意搬动或调换他人的仪器和实验药品。
6. 实验时,必须按照正确的方法和操作步骤进行实验,细心观察,真实记录,认真分析,得出结论,按时完成实验,独立完成实验报告。对于当时不能得到结果而需要连续观察的实验,则需记下每次观察的现象和结果,以便分析。
7. 爱护公共财产,节约水电、器材和药品,如有损坏标本、仪器设备等应立即报告,主动登记,必要时应按章处理。
8. 实验后,应将仪器洗净并放回原处。实验台和实验用具必须擦干净。动物尸体及实验用的废物放于指定地点。清扫实验室,检查并关闭水、电、门、窗后再离开。

三、实验室意外事件处理

实验室如遇着火、烫伤等意外事件发生,必须镇静,不要惊慌失措,要在老师指导下妥善处理。

实验报告

实验报告是对实验的全面总结，是表达实验研究成果的一种形式。整理实验结果和撰写实验报告是做完实验后最基本的工作，也是一项重要的基本技能训练。通过书写实验报告可以学习和掌握科学论文书写的基本格式、图表绘制、数据处理、文献资料查阅的基本方法，并利用实验资料和文献资料对实验结果进行科学的分析和总结，培养和训练学生的逻辑归纳能力、综合分析能力和文字表达能力，是科学论文写作的基础。因此，参加实验的每一位学生均应及时、认真地书写实验报告。

一、实验报告格式及内容

(一) 实验题目

题目是实验报告中心思想和主要内容的高度概括，应言简意赅。题目像一种标签，切忌冗长，也要避免过分笼统，反映不出报告的主题特色。

学生实验报告可用实验讲义上的题目，也可根据实验内容自己拟定。题目前需加实验序号。

(二) 一般项目

包括进行实验的主要工作者的姓名、年级、专业、班级、学号、实验日期、地点、实验室温度和湿度。

(三) 实验目的

实验目的作为实验报告正文的开端，主要说明通过实验验证有关学科的理论或某些结论所要达到的预期结果，或者实验追求的目标，可以包括一个以上的问题。文字要精练。

(四) 实验原理

介绍实验的理论依据，可酌情省略。

(五) 实验对象

实验研究的对象包括人和动物等。以人为对象的实验应记录性别、体重、年龄等；以动物为对象的实验应记录动物的种属、品系、数量、体重、性别（雌或雄）和健康状况等。

(六) 实验用品

1. 器材 包括仪器、材料的名称、型号、规格、数量、生产厂商、实验仪器的组成及参数。

2. 药品和试剂 包括药品和试剂的名称、规格、剂型、批号和生产厂商等。

(七) 实验内容与步骤

1. 实验环境和条件的控制，样品的制备方法，实验动物的饲养条件，药物、试剂的配制过程和方法。实验对象的分组及处理，实验步骤或流程，操作方法。

2. 观察方法和指标，数据记录方式，资料和结果的收集整理。

3. 统计学方法的选用。

(八) 实验结果

实验结果是对实验现象的描述、实验数据的处理等，其表达形式有图、表和文字叙述三种。

1. 叙述式 根据实验目的将原始资料系统化、条理化，用准确的专业术语客观地描述

实验现象和结果,要有时间顺序以及各项指标在时间上的先后层次。

2. 表格式 以表格的形式记录实验的原始数据。能够较为清楚地反映所观察到的内容,有利于相互对比。每一个表格应填明表内的表目及计量单位,应说明一定的中心问题。

3. 简图式 即经过编辑标注的原始记录曲线或经过统计学处理的统计图、表以及对图、表的文字说明。如实验中描记的血压、呼吸等指标可用曲线图表示;也可取其不同的时相点,用直线图表示。

在实验报告中,可任选其中一种或几种方法并用,以获得最佳效果。

(九) 分析与讨论

讨论是从实验中观察到的结果出发,合理、综合地运用专业知识,从理论上对其进行分析、比较、阐述、推论和预测。

1. 从理论上对实验结果的各种资料、数据、现象等进行综合分析,解释、说明实验结果,重点阐明实验中出现的一般性规律与特殊性规律之间的关系。

2. 指出实验结果提示了哪些新问题,结果和结论的理论意义及其大小,对实践的指导作用与应用价值。

3. 指出实验过程中遇到的问题、差错和教训,与预想结果不一致的原因,有何尚待解决的问题及解决的方法,提出在今后的实验中需注意和改进的地方。

另外,也可以写一些本次实验的心得以及提出一些问题或建议等。

(十) 结论

结论是对整篇报告的主要内容和主要论点进行概括性总结。文字要简短,不用表或图。它并非简单重复正文各部分内容的小结,而是作者在实验结果和理论分析的基础上,经过严密的逻辑推理,更深入地归纳报告中能反映事物本质规律的结论。措词要严谨、精练,表达要准确,有条理性,结论要与实验目的相呼应。

(十一) 参考文献

参考文献是实验报告引用他人的资料,在报告最后列出的文献目录,这既是为了反映实验报告的科学依据,表明作者尊重他人的研究成果,同时也向读者提供有关原文信息的出处,可酌情列出。参考文献的书写格式依据我国国家标准《科学技术期刊编排格式 GB3179-92》和国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors, ICMJE)拟定的《生物医学期刊对原稿的统一要求》,又称温哥华格式(Vancouver style),期刊引用按“作者·文题·刊名,年份;卷(期):起页-止页。”的格式书写;书籍引用按“作者·书名·版次·出版地:出版商,年份;起页-止页。”的格式书写。参考文献也可省略。

(十二) 鸣谢

在实验中受到他人的帮助,在报告中以简单的语言感谢,如无可省略。

二、实验报告的撰写要求

1. 需由实验者独立完成实验报告。

2. 内容实事求是,真实、准确,具有较强的逻辑性和科学性,书写整洁,文字精练,术语正确,标点符号、外文缩写、单位度量等书写准确、规范。

3. 原始数据整理成表,原始记录曲线及图片等剪贴标注,图表设计要恰当。原始资料应附在本次实验主要操作者的实验报告上,同组的合作者要复制原始资料。

(赵春艳 李杰)

第二篇 基础篇

第一部分 医学细胞生物学实验

实验一 普通光学显微镜的结构和使用

【实验目的】

1. 熟悉光学显微镜各部件的结构和用途, 掌握显微镜维护的基本知识。
2. 初步掌握低倍镜、高倍镜的使用方法。

【实验原理】

光学显微镜 (light microscope) 简称光镜, 是利用光线照明使微小物体形成放大影像的仪器。目前使用的光镜种类繁多, 外形和结构差别较大, 有些类型的光镜有其特殊的用途, 如暗视野显微镜、荧光显微镜、相差显微镜、倒置显微镜等, 但其基本构造和工作原理是相似的。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, 但它们的作用都是相当于一个凸透镜。被检标本放在物镜下方的 $1\sim 2$ 倍焦距之间, 上方形成一倒立的放大实像, 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。

分辨力 (resolving power) 是光镜的主要性能指示, 也称为分辨率或分辨本领, 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。据测定, 人眼的分辨力约为 $100\mu\text{m}$ 。显微镜的分辨力由物镜的分辨力决定, 物镜的分辨力就是显微镜的分辨力; 而目镜与显微镜的分辨力无关。

放大率或放大倍数是光镜性能的另一个重要参数, 一台显微镜的总放大倍数等于目镜放大倍数与物镜放大倍数的乘积。

【实验对象】

蛙血涂片。

【实验用品】

1. 器材 显微镜、擦镜纸。
2. 试剂 香柏油、清洁剂 (乙醚 7 份 + 无水乙醇 3 份)、二甲苯。

【实验内容与步骤】

(一) 光学显微镜的基本构造及功能

光学显微镜的构造主要分为三个部分：机械部分、光学部分和照明部分（图 1-1）。



图 1-1 光学显微镜的构造

1. 机械部分

(1) 镜筒：为安装在光镜最上方或镜臂前方的圆筒状结构，其上端装有目镜，下端与物镜转换器相连。根据镜筒的数目，光镜可分为单筒式或双筒式两类。单筒光镜又分为直立式和倾斜式两种。而双筒式光镜的镜筒均为倾斜的。

(2) 物镜转换器：又称物镜转盘。是安装在镜筒下方的一个圆盘状构造，可以按顺时针或逆时针方向自由旋转。其上均匀分布有 3~4 个圆孔，用以装载不同放大倍数的物镜。转动物镜转盘可使不同的物镜到达工作位置（即与光路合轴）。使用时注意凭手感使所需物镜准确到位。

(3) 镜臂：为支持镜筒和镜台的弯曲状构造，是取用显微镜时握持的部位。镜筒直立式光镜在镜臂与其下

方的镜柱之间有一倾斜关节，可使镜筒向后倾斜一定角度以方便观察，但使用时倾斜角度不应超过 45° ，否则显微镜会由于重心偏移而容易翻倒。在使用临时装片时，千万不要倾斜镜臂，以免液体或染液流出，污染显微镜。

(4) 调焦器：镜柱上方有两对齿轮，上方较大的一对称粗调节器，下方较小的一对称细调节器，轮动时能使镜筒上下移动来调节焦距。粗调节器可使镜筒升降较快（旋转一周可上、下移动 1~2cm），一般使用低倍镜时多用粗调节器。细调节器可使镜筒缓慢升降（旋转一周可上、下移动 0.01cm），多在高倍镜下使用，对焦距作精细调节，借以对物体不同层次、深度的结构做细致观察。双目镜的调节器——细调节器位于粗调节器外侧。在镜筒一侧的粗调节器内侧，有粗调节器限位环手柄，用来限定载物台可达到的最大高度；另一侧的粗调节器内侧有松紧螺旋，可调节粗调节器的松紧。

(5) 载物台：也称镜台，是位于物镜转换器下方的方形平台，是放置被观察的玻璃标本的地方。平台的中央有一圆孔，称为通光孔，来自下方的光线经此孔照射到标本上。

(6) 标本推进器：位于镜台后方或侧面边缘，连一个可动弧形弹簧夹，其上方一侧有两个旋钮可调节推进器，使玻片标本向前后或左右移动（推进器旋钮也可垂直连在一起）。

(7) 镜柱：为垂直于镜座上的短柱，用以支持镜臂。

(8) 镜座：为显微镜的基座，呈马蹄形（双筒目镜为方形），支持整个镜体，起稳固作用。

2. 光学系统部分

显微镜的光学系统主要包括物镜和目镜。

(1) 目镜：又称为接目镜，安装在镜筒的上端，起着将物镜所放大的物像进一步放大的作用。每个目镜一般由两个透镜组成，在上下两个透镜（即接目透镜和会聚透镜）之间安装有能决定视野大小的金属光阑——视场光阑，此光阑的位置即物镜所放大的实像的位置，故可将一小段头发黏附在光阑上作为指针，用以指示视野中的某一部分供他人观察。另外，还可在光阑的上面安装目镜测微尺。每台显微镜通常配置 2~3 个不同放大倍率的目镜，常见的有 5×、10× 和 15×（× 表示放大倍数）的目镜，可根据不同的需要选择使用，最常使用的是 10× 目镜。

(2) 物镜：也称接物镜，嵌装在转换器上，一般分低倍镜（8×、10×）、高倍镜（40×、45×）、油镜（90×、100×）三种。镜头末端经常有不同颜色的一圈线表示不同倍数，有时油镜上标有“oil”等字样。有的物镜上刻有 0.25、0.6、1.25 等字样来表示镜口率（N.A.）。或标有 160/0.17，160 表示目镜至转换器平面不能小于 160mm；0.17 表示盖玻片厚度不能超过 0.17mm，若超过 0.17mm，就会看不清标本。

3. 照明部分

(1) 聚光器：位于载物台的通光孔的下方，由聚光镜和光圈构成，其主要功能是光线集中到所要观察的标本上。聚光镜由 2~3 个透镜组合而成，其作用相当于一个凸透镜，可将光线汇集成束。在聚光器的左下方有一调节螺旋可使其上升或下降，从而调节光线的强弱，升高聚光器可使光线增强，反之则光线变弱。

(2) 反光镜：位于聚光镜的下方，可向各方向转动，能将来自不同方向的光线反射到聚光器中。反光镜有两个面，一面为平面镜，另一面为凹面镜。凹面镜有聚光作用，适于较弱光和散射光下使用，光线较强时则选用平面镜（现在有些新型的光学显微镜都有自带光源，而没有反光镜；有的两者都配置）。

(3) 光圈：是聚光镜底部的一个圆形结构，由多片半圆形的金属片组成。在圆环外缘有一突起的小柄，拨动它能使金属片分开或并拢，用以控制光线的强弱，使物像更清晰。

（二）光学显微镜的使用方法

将显微镜小心地从镜箱中取出（移动显微镜时应以右手握住镜壁，左手托住镜座），放置在实验台的偏左侧，以镜座的后端离实验台边缘 6~10cm 为宜。首先检查显微镜的各个部件是否完整和正常。

1. 低倍镜的使用方法

(1) 先向上移动粗调节器，使镜筒上升，再转动旋转盘，使低倍镜对准能光孔，即能听到“卡扣”的固定声响，同时感到手有阻力，说明物镜与镜筒已成一直线。

(2) 对光：打开光圈并使聚光器上升到适当位置（以聚光镜上端透镜平面稍低于载物台平面的高度为宜）。然后用左眼向目镜内观察（注意两眼应同时睁开），同时调节反光镜的方向，使视野内的光线均匀、亮度适中。

(3) 放置玻片标本：将玻片标本放置到载物台上，用标本移动器上的弹簧夹固定好（注意：使有盖玻片或有标本的一面朝上），然后转动标本移动器的螺旋，使需要观察的标本部位对准通光孔的中央。

(4) 调节焦距：从侧面注视低倍镜，同时用粗调螺旋使镜头下降（或载物台上升），直至低倍镜头距玻片标本的距离小于 0.5cm（注意操作时必须从侧面注视镜头与玻片的距离，

以避免镜头碰碎玻片)。然后用左眼在目镜上观察,同时用左手慢慢转动粗调螺旋使镜筒上升(或使载物台下降),直至视野中出现物像为止;再转动细调螺旋,使视野中的物像最清晰。如果需要观察的物像不在视野中央,甚至不在视野内,可用标本移动器前后、左右移动标本的位置,使物像进入视野并移至中央。在调焦时,如果镜头与玻片标本的距离已超过了1cm还未见到物像时,应严格按上述步骤重新操作。

2. 高倍镜的使用方法

(1) 在使用高倍镜观察标本前,应先用低倍镜寻找需观察的物像,并将其移至视野中央,同时调准焦距,使被观察的物像最清晰。

(2) 转动物镜转换器,直接使高倍镜转到工作状态(对准通光孔),此时,视野中一般可见到不太清晰的物像,只需调节细调节器,一般都可使物像清晰。

3. 油镜的使用方法

(1) 用高倍镜找到所需观察的标本物像,并将需要进一步放大的部分移至视野中央。

(2) 将聚光器升至最高位置,并将光圈开至最大(因油镜需要光线较强)。

(3) 转动物镜转换盘,移开高倍镜,往玻片标本上需观察的部位(载玻片的正面,相当于通光孔的位置)滴一滴香柏油作为介质,然后在注视下使油镜转至工作状态。此时,油镜的下端镜面一般正好浸在油滴中。

(4) 左眼注视目镜,同时小心而缓慢地转动细调节器(注意:这时只能使用细调节器,千万不要使用粗调节器)使镜头微微上升(或使载物台下降),直至视野中出现清晰的物像。操作时不要反方向转动细调节器,以免镜头下降压碎标本或损坏镜头。

(5) 油镜使用完后,必须及时将镜头上的油擦拭干净。操作时先将油镜升高1cm,并将其转离通光孔,先用干擦镜纸擦一次,把大部分的油去掉,再用蘸有少许清洁剂或二甲苯的擦镜纸擦一次,最后再用干擦镜纸揩擦一次。至于玻片标本上的油,如果是有盖玻片的永久制片,可直接用上述方法擦干净;如果是无盖玻片的标本,则盖玻片上的油可用拉纸法揩擦。即先把一小张擦镜纸盖在油滴上,再往纸上滴几滴清洁剂或二甲苯,趁湿将纸往外拉,如此反复几次即可擦净。

【注意事项】

1. 拿显微镜时,应右手紧握镜臂,左手托住镜座,不能一手随便斜提,防止零件脱落。

2. 用完后必须将目镜、反光镜、物镜用洁布擦净,切勿口吹、手摸或用粗布及其他硬物揩拭,勿用乙醇等药品,以免侵蚀镜头及其他物件。

3. 使用时先用低倍镜调节光源,如标本颜色较浅,可适当调小光圈,使物像清晰。

4. 放置玻片标本时,应使盖玻片(有标本)一侧朝上,使观察处对准通光孔。

5. 观察时要双目齐睁,使用高倍镜时必须用细调节器调焦。调节器不能做单方向旋转,如一直上升会使镜筒脱落,反之会压碎标片。

6. 不要随意取出物镜,以防灰尘落入;禁止任意拆卸零件,以防意外损伤。

7. 显微镜使用完后应及时复原。先升高镜筒(或下降载物台),取下玻片标本,使物镜转离通光孔。如镜筒、载物台是倾斜的,应恢复直立或水平状态。然后下降镜筒(或上升载物台),使物镜与载物台相接近。垂直反光镜则下降聚光器,关小光圈,最后放回镜箱中锁好。

【应用领域】

光学显微镜是生物科学和医学研究领域常用的仪器,它在细胞生物学、组织学、病理学、微生物学及其他有关学科的教学及研究工作中有着极为广泛的用途,是研究人体及其他

生物机体组织和细胞结构强有力的工具。

【思考题】

1. 使用显微镜观察标本时,为什么必须按从低倍镜到高倍镜,再到油镜的顺序进行?
2. 在调焦时为什么要先将低倍镜与标本表面的距离调节到6mm之内?
3. 如果标本片放反了,可用高倍镜或油镜找到标本吗?为什么?

(张金波)

实验二 细胞的基本形态结构与显微测量

【实验目的】

1. 了解动物细胞的形态和结构。
2. 了解临时标本的制作方法。
3. 进一步熟悉显微镜的使用方法。
4. 掌握细胞的显微测量方法。

【实验原理】

细胞是生物体的基本结构和功能单位,它们的形态多样,如圆形、方形、梭形和星形等。细胞的形态与其功能是相适应的,如动物体内具有收缩功能的肌细胞是条形或长梭形;人红细胞为圆盘状,以利于携带 O_2 和 CO_2 ,并进行气体交换。机体内的细胞在离体培养的情况下形态会发生很大的变化,如平滑肌细胞在体内呈梭形,但在培养条件下则呈多角形。由此可见,细胞的形态与功能的统一是所有细胞的一个重要特点。

细胞的大小差别很大,有的用肉眼就能看到,如鸵鸟卵直径可达5cm;最小的支原体仅为 $0.1\mu m$ 。一般而言,真核细胞的体积要大于原核细胞,高等动物的卵细胞大于体细胞。对于大多数高等动物的细胞来说,其体积一般在 $20\sim 30\mu m$ 之间,大多需借助于光学显微镜才能被观察到。细胞大多体积小,计量单位一般用微米(micron, μm)和纳米(nanometer, nm)等。细胞的大小一般可用显微测微尺加以测量,显微测微尺由目镜测微尺(也称目微尺)和镜台测微尺(也称物微尺)组成。目镜测微尺是一个可以放在目镜内的特制玻璃圆片,圆片中央刻有一条直线,此线分为若干格。镜台测微尺为一载玻片中央封固的小尺,长1mm,被等分为100格,每格长为 $0.01mm$ ($10\mu m$)。当测量细胞大小时,不能用镜台测微尺直接测量细胞,而只能使用目镜测微尺。因目镜测微尺测量的细胞是经物镜放大后的像,而目镜测微尺每格所代表的实际长度随物镜的放大率而改变,故在测量时需先用镜台测微尺来标定,求出某一放大率时目微尺每格所代表的实际长度,然后再用以测定细胞大小。将镜台测微尺放在显微镜的载物台上,小心转动目镜测微尺,移动镜台测微尺使两尺平行,起点线重合,然后找出另一处两尺刻度重合处,记录起点线到重合线之间的各尺的刻度数(格数),按下式计算在该放大系统下,目镜测微尺每格所代表的实际长度:

$$\text{目微尺每格所代表的实际长度} = \frac{\text{物微尺格数}}{\text{目微尺格数}} \times 10\mu m$$

例如:目镜测微尺是100格,其对应的镜台测微尺是80格,则目镜测微尺每格所代表的实际长度为 $80/100 \times 10 = 8\mu m$ 。测量某一细胞时,如果目镜测微尺测得其横径为5格,则

此细胞横径为 $8 \times 5 = 40 \mu\text{m}$ 。

【实验对象】

人口腔上皮细胞、青蛙。

【实验用品】

1. 器材 显微镜、载玻片、镊子、牙签、纱布、棉花、吸水纸、剪刀、玻璃缸、目镜测微尺和镜台测微尺。

2. 试剂 碘酒稀释液或伊红染液、Giemsa 染液、甲醇。

【实验内容与步骤】

1. 人口腔黏膜上皮细胞的制作

吸取一滴碘酒稀释液或伊红染液滴在一张洁净的载玻片中央，用一根牙签的钝端伸入自己的口腔内壁，轻轻刮取黏膜上皮细胞，将它涂在碘酒稀释液中，轻轻搅动，使细胞分布在玻片中，要分布均匀，待其染色。然后用镊子夹取盖玻片，让盖玻片一边先接触水滴，再慢慢放下，避免产生气泡，如果盖玻片周围有过多的水分，用吸水纸吸去。

2. 蛙血涂片标本的制作

取活蛙一只，剪断后肢，滴一滴血于载玻片的右端（或心脏取血），另拿一张边缘光滑的载玻片，让其一侧接触血液，血液沿边缘展开，使推血玻片与盛血玻片成 45° 角，迅速向前推移，使血液成薄层均匀分布。推片时，玻片斜角越小，速度越快，则涂片越薄，反之越厚。推片时要动作协调，快慢一致，用力均匀。血片晾干后，放在盛甲醇的玻璃缸中，固定 3min，将固定后的玻片放在盛有 Giemsa 染液的染色缸中染色 15min，然后用自来水冲洗，晾干后置显微镜下观察。

3. 显微测量方法

(1) 将镜台测微尺置于镜台（即载物台）中央，先用低倍镜找到镜台测微尺的刻度。每一大格为 0.1mm，每一小格为 0.01mm（即 $10 \mu\text{m}$ ）。

(2) 目镜测微尺已事先装入目镜筒中，转动目镜筒或移动镜台测微尺，使两标尺平行。

(3) 转换高倍镜，在视野中使物镜测微尺的任一刻度与目镜测微尺的任一刻度线重合为起点，沿两标尺平行方向，再找到另一重合刻度线为终点，记录两重合线这一区段标尺各自的格数，即可算出目镜测微尺每小格的长度，如低倍镜下所标定的目镜测微尺的全长为 50 格，相当于镜台测微尺的 68 格，即可求出目镜测微尺每一小格等于 $13.6 \mu\text{m}$ ：

$$50 : 68 = 1 : x$$

$$x = 1.36 \text{ 格}$$

$$1.36 \times 10 (\mu\text{m}) = 13.6 (\mu\text{m})$$

(4) 取下镜台测微尺，换上需要测量的玻片标本，用目镜测微尺的刻度来测量细胞的横径（格数），所得的细胞横径（格数）乘以每刻度的微米数（ μm ），即为细胞的实际横径。

【结果观察】

1. 将自制的口腔黏膜上皮细胞标本置于低倍镜下观察，挑选完整、轮廓清晰的细胞，移至视野中央，换高倍镜观察，可见到口腔黏膜上皮细胞呈扁平形状，细胞膜薄，中央有一卵圆形的细胞核，细胞核与膜之间为细胞质（图 2-1）。

2. 在低倍镜下，选择分布均匀的血细胞，换高倍镜观察。蛙血红细胞呈椭圆形，中央