

高等医药院校教材

供基础、临床、预防、口腔医学类专业用

主编 蔡绍京 魏文科 肖桂芝

# 细胞生物学与医学遗传学 实验教程

 人民卫生出版社

高等医药院校教材  
供基础、临床、预防、口腔医学类专业用

# 细胞生物学与医学遗传学 实验教程

主 编 蔡绍京 魏文科 肖桂芝

主 审 高殿帅 徐瑞成 骆 延

副主编 (以姓氏笔画为序)

申本昌 朱志强 杨生玺 宋远见 陈小义  
陈立梅 武 辉 周 勇

编 委 (以院校笔画为序)

广州医学院	申本昌	曹锦宏
北华大学	陈立梅	
扬州大学	武 辉	
沈阳医学院	朱志强	刘 萍
武警医学院	陈小义	徐瑞成
青海医学院	杨生玺	
河南科技大学	骆 延	沈 滢 任长江 赵 晓
承德医学院	肖桂芝	
徐州医学院	蔡绍京	高殿帅 宋远见
湖北民族学院	魏文科	
新疆医科大学	周 勇	夏米西努尔·伊力克

人民卫生出版社

## 图书在版编目(CIP)数据

细胞生物学与医学遗传学实验教程/蔡绍京等主编.  
—北京:人民卫生出版社,2010.12  
ISBN 978-7-117-13863-5

I. ①细… II. ①蔡… 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 234146 号

门户网: <a href="http://www.pmph.com">www.pmph.com</a>	出版物查询、网上书店
卫人网: <a href="http://www.ipmph.com">www.ipmph.com</a>	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有,侵权必究!

## 细胞生物学与医学遗传学实验教程

主 编:蔡绍京 魏文科 肖桂芝  
出版发行:人民卫生出版社(中继线 010-59780011)  
地 址:北京市朝阳区潘家园南里 19 号  
邮 编:100021  
E-mail: [pmph@pmph.com](mailto:pmph@pmph.com)  
购书热线:010-67605754 010-65264830  
010-59787586 010-59787592  
印 刷:三河市富华印刷包装有限公司  
经 销:新华书店  
开 本:787×1092 1/16 印张:8  
字 数:195 千字  
版 次:2010 年 12 月第 1 版 2010 年 12 月第 1 版第 1 次印刷  
标准书号:ISBN 978-7-117-13863-5/R·13864  
定 价:19.00 元  
打击盗版举报电话:010-59787491 E-mail: [WQ@pmph.com](mailto:WQ@pmph.com)  
(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)

# 内 容 提 要

本实验教程由 10 个省、市、区 11 所院校专家教授共同编写,包括经典的细胞生物学实验和医学遗传学实验的全部内容,能满足不同院校的实验教学需要,即既能满足“细胞生物学实验”和“医学遗传学实验”分设的教学要求,也能适应只开设医学生物学课程院校的实验教学需要。实验教程中的分子遗传学实验供实验课时充足且有实验条件的院校选用;附录的动物实验基本知识,可供学生参考。

本实验教程的特点是介绍实验原理、实验目的要求简明扼要,介绍实验操作过程详尽、明了;“实验操作”后的分析思考题及实验报告有助于学生加深对相关理论知识和实验内容的理解和掌握。

本实验教程适用于高等医学院校本、专科细胞生物学、医学遗传学及医学生物学课程的实验教学,也可供医学院校相关专业的研究生使用。

# 前 言

《细胞生物学》和《医学遗传学》是高等医学教育的重要课程,也是实验性很强的两门学科。通过实验教学,不仅能使学生掌握实验技能、加深对相关理论知识理解和掌握,而且有助于培养学生实事求是的科学态度、严谨细致的工作作风,以及分析和解决问题的能力。在医学教育的改革和发展进程中,《细胞生物学》和《医学遗传学》两门课程的前身是医学生物学,现今,这两门课程的教学多数院校仍为原医学生物学课程教学的原班人马承担,因此,我们将这两门课程的实验教学内容汇编为《细胞生物学与医学遗传学实验教程》,既能满足“细胞生物学”和“医学遗传学”分设的实验教学要求,也能适应只开设医学生物学课程院校的实验教学需要。

本实验教程以2002年苏皖两省4院校协作编写的实验教材《细胞生物学与医学遗传学实验指南》为基础,结合此次参编院校这两门课程的实验课内容,由10个省、市、区的11所院校专家教授共同编写。

本实验教程的编写注重适应各参编院校实验课的开设需要。各参编院校实验课时差别较大,实验课的开设内容也不尽相同,有些实验是多数院校均开设的,有的实验仅个别院校开设,为了满足各校实验课的需要,即使是个别院校的实验内容,我们也将其编入。

全书共分4部分,包括细胞生物学实验、医学遗传学实验、分子遗传学实验和附录。前两部分细胞生物学实验和医学遗传学实验是本书的主体,能满足不同院校的实验教学需要,第3部分分子遗传学实验供实验课时充足且有实验条件的院校选用,第4部分附录动物实验的基本知识,供学生参考。需要说明的是,每个实验主要依据内容的相关性排定,并非代表一次实验课的内容。鉴于各校实验总课时不同、每次实验课的课时也不同,各校可根据具体情况选取相应实验内容教学。

本实验教程编写过程中,各位作者本着对学生负责的态度,对相关的实验内容仔细推敲、精益求精、一丝不苟、数易其稿。尽管如此,由于医学科学的迅猛发展及编写人员的水平所限,书中难免有不足及疏漏之处,真诚期望同行专家、使用本实验教程院校的师生提出批评意见,以便再版时修正。

蔡绍京

2010年10月

# 实验要求与实验室规则

“细胞生物学”和“医学遗传学”是医学教育中两门重要的基础学科,也是实验性很强的学科;细胞生物学和医学遗传学实验课是整个课程教学的重要组成部分。这两门课程的实验课基本要求如下:

1. 通过实验,验证和巩固相关的理论知识,加深对理论知识的理解。
2. 通过实验,培养实事求是、严谨细致的科学态度,科学的思维方法和独立思考、独立工作的能力。
3. 通过具体的实验操作,掌握两门实验课的基本实验方法和基本实验技能。
4. 每次实验课前,要认真预习实验教程及教材的相关内容,明确实验目的、要求,对实验内容、实验原理、实验方法和步骤,做到心中有数。
5. 实验过程中,要按照实验步骤,细心操作,仔细观察,做好实验记录,分析实验结果,培养自己分析问题和解决问题的能力,并认真完成实验报告。

**为保证实验的顺利进行,必须严格遵守以下实验室规则:**

1. 遵守纪律,不迟到、早退;实验中途如需外出,应向老师请假。
2. 进入实验室,要带齐学习用品(包括绘图用品),穿好白大衣,按指定座位入座。
3. 实验过程要保持肃静,不在实验室内大声喧哗及随意走动,不做与实验无关的事。
4. 爱护仪器、标本和设备;如遇仪器故障或操作不灵,应及时报告老师,以便修理或更换,不要自行拆卸;各实验小组实验器材不得互相调换。
5. 注意节约实验材料、药品以及水、电资源,损坏仪器或标本应按规定赔偿。
6. 保持实验室内清洁;实验结束后,各实验小组必须认真清理各自的实验台面,将器材清洗并清点后,然后整齐摆放;值日生负责清扫室内卫生,实验废弃物放置到指定地点,关好门窗、水电。

# 目 录

<b>第一部分 细胞生物学实验</b> .....	1
实验一 普通光学显微镜.....	1
实验二 细胞的基本形态与结构.....	9
实验三 细胞计数与显微测量.....	13
实验四 细胞的显微结构与超微结构.....	16
实验五 细胞化学.....	24
实验六 细胞组分的分级分离.....	33
实验七 细胞的生理活动.....	36
实验八 细胞分裂.....	41
实验九 细胞培养.....	50
实验十 细胞凋亡.....	56
实验十一 免疫细胞化学.....	61
<b>第二部分 医学遗传学实验</b> .....	65
实验十二 小鼠骨髓细胞染色体标本的制备.....	65
实验十三 人类染色体标本制备与非显带染色体核型分析.....	68
实验十四 人类染色体 G 显带技术和 G 显带染色体核型分析.....	76
实验十五 人类染色体姐妹染色单体差别染色技术.....	84
实验十六 人类性染色质检测.....	86
实验十七 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核检测.....	89
实验十八 人类皮肤纹理分析.....	91
实验十九 人类单基因遗传的群体分析.....	97
实验二十 人类遗传病分析.....	101
<b>第三部分 分子遗传学实验</b> .....	107
实验二十一 质粒 DNA 的提取、酶解和电泳.....	107
实验二十二 反转录-聚合酶链反应.....	110
<b>附录</b> .....	113
动物实验的基本知识.....	113

# 第一部分 细胞生物学实验

## 实验一 普通光学显微镜

### 【目的要求】

1. 熟悉普通光学显微镜的主要构造及其性能。
2. 掌握低倍镜及高倍镜的使用方法。
3. 初步掌握油镜的使用方法。
4. 熟悉光学显微镜的维护方法。

### 【实验原理】

光学显微镜,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。显微镜发明和使用已有 400 多年历史。1590 年前后,荷兰的 Hans 父子研制出了放大 10 倍的原始显微镜;1665 年,英国物理学家 Hooke 研制出性能较好的显微镜并用它发现了细胞。400 多年来,经不断改进,显微镜的结构和性能逐步完善,形成了品种繁多、型号各异的光学显微镜系列(图 1-1)。除了广泛使用的普通光学显微镜外,还有相差显微镜、暗视野显微镜、荧光显微镜和倒置显微镜等具有特殊功能或用途的光镜。形形色色的光学显微镜虽然外形和结构差异较大,但其基本构造和工作原理是相似的。一台普通光学显微镜主要由机械系统和光学系统两部分构成,而作为显微镜核心部分的光学系统则主要包括物镜、目镜、聚光器和反光镜等部件。

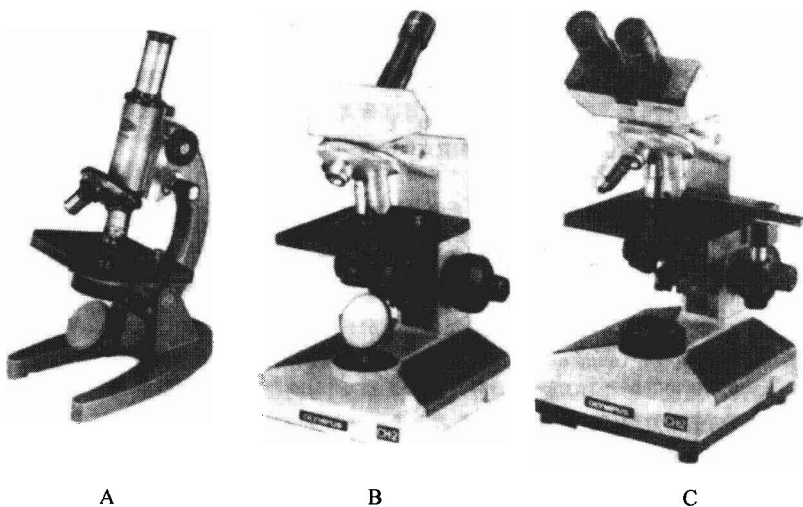


图 1-1 光学显微镜型号示例

A. 单筒直立式; B. 单筒倾斜式; C. 双筒倾斜式



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,故物镜可使标本在物镜的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(图 1-2)。

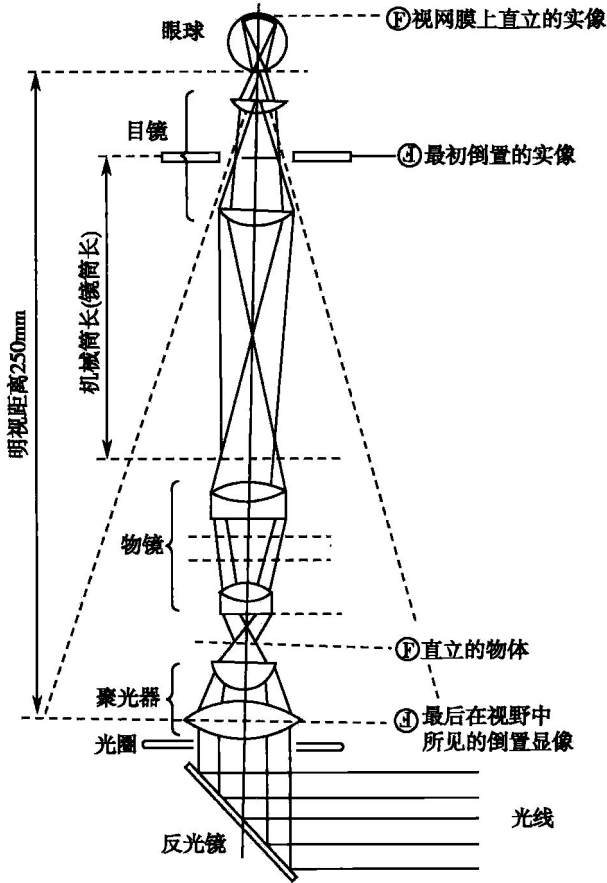


图 1-2 光学显微镜的放大原理及光路图

一台显微镜的性能和质量的高低由多方面指标来反映,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。

分辨率是光镜最重要的性能指标,是指在 25cm 的明视距离处,能区分被检物体上两个质点间的最小距离。因此,分辨率越小,说明分辨能力越高。据测定,人眼的分辨率约为  $100\mu\text{m}$ ,而光镜的分辨率可达  $0.2\mu\text{m}$ 。显微镜的分辨率由物镜的分辨率决定,物镜的分辨率就是显微镜的分辨率,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:

$$R=0.61\lambda/N.A.=0.61\lambda/n \cdot \sin(\alpha/2)$$

式中  $\lambda$  为照明光源的波长,可见光的最短波长为  $0.4\mu\text{m}$ 。N.A. 代表数值孔径,也称镜口率,其数值等于物镜和被检样品之间介质的折射率(n)与镜口角( $\alpha$ )一半的正弦值的乘

积,即  $N.A. = n \cdot \sin(\alpha/2)$ 。n 的最大值为 1.5(香柏油为介质),镜口角是指位于物镜光轴上标本的一个点发出的光线延伸到物镜前透镜的有效直径的两端所形成的夹角,镜口角越大,进入物镜的光线越多, $\sin(\alpha/2)$  的最大值为 1( $\alpha=180^\circ$ )。将  $\lambda$  和 N.A. 代入公式,可得  $R=0.61 \times 0.4 \mu\text{m} / 1.4 = 0.17 \mu\text{m}$ ,即显微镜的最大分辨率约为  $0.2 \mu\text{m}$ 。

由上式可知,物镜的 N.A. 决定一台显微镜的主要光学性能,N.A. 越大,分辨率就越小,显微镜的分辨能力就越强,显微镜的光学性能也越好。但 N.A. 与焦点深度(即当显微镜对标本的某一点或平面准焦时,焦点平面上下影像清晰的距离或范围)成反比,因此,并非 N.A. 越大越好。物镜的 N.A. 通常标刻在物镜的周缘。

使用低倍镜和高倍镜时,空气为介质,n 值为 1.00;使用油镜时,香柏油为介质,n 值为 1.50(n 的最大值)。因此,油镜的 N.A. 大于低倍镜和高倍镜,即油镜的分辨能力强于低倍镜和高倍镜。目前,在实用范围内,物镜(油镜)的最大 N.A. 为 1.4。另外,由于空气与玻片的密度不同,当光线通过玻片与物镜镜头间的空气介质时,发生散射,降低了视野的照明度;而玻片和香柏油的折射率相近,当光线通过时,几乎不发生折射,增加了视野的进光量,故使用油镜观察标本时,物像更加清晰。

放大率或放大倍数是光镜性能另一重要参数,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。常用光镜最大放大倍数为  $10(\text{目镜}) \times 100(\text{油镜}) = 1000$  倍。

本次实验主要介绍普通光学显微镜(以下简称显微镜)的基本结构、功能及使用方法。

### 【实验用品】

#### (一) 材料

人血涂片或蟾蜍血涂片、羊毛交叉装片、英文字母装片。

#### (二) 器材

普通光学显微镜、二甲苯、香柏油、擦镜纸。

### 【实验操作】

## 一、熟悉显微镜的基本结构与功能

### (一) 机械系统

1. 镜筒 镜筒是安装在显微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(图 1-3)。根据镜筒的数目,显微镜可分为单筒式和双筒式两类。单筒显微镜又分为直立式和倾斜式两种,而双筒显微镜的镜筒均为倾斜式的。

2. 物镜转换器 物镜转换器又称旋转盘,是安装在镜筒下方的圆盘状结构,可顺时针或逆时针方向旋转,其上均匀分布有 3~4 个圆孔,可装不同放大倍数物镜。转动物镜转换器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 镜臂是支持镜筒和镜台的弯曲状结构,是取用显微镜时握持的部位。镜筒直立式显微镜在镜臂与其下方的镜柱之间有一倾斜关节,此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  $45^\circ$ ,否则,由于重心偏移,显微镜容易翻倒。

4. 调焦器 调焦器也称调焦螺旋,是调节焦距的装置,位于镜臂的上端(直立式镜筒)或下端(倾斜式镜筒),分粗调螺旋(大螺旋)和细调螺旋(小螺旋)两种。粗调螺旋可使镜筒或载物台以较快速度或较大幅度升降,能迅速调节好焦距,使物像呈现在视野中,适用于低倍镜观察时的调焦。细调螺旋只能使镜筒或载物台缓慢升降,升或降的幅度不易被肉眼观察到,适用于高倍镜和油镜的焦距精细调节,也用于观察标本的不同层次。

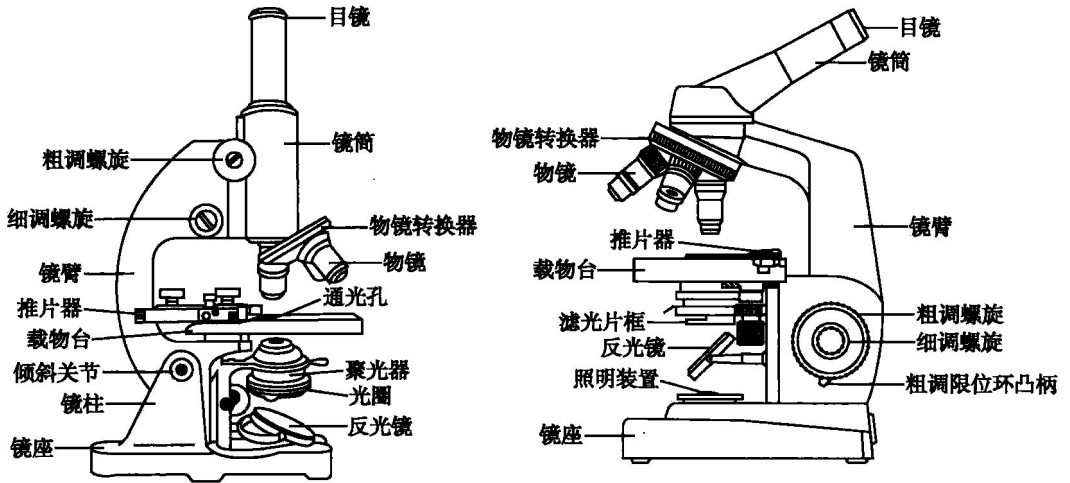


图 1-3 显微镜结构示意图

5. 载物台 载物台也称镜台,是位于物镜转换器下方的方形平台,用于放置被观察的玻片标本。载物台的中央有圆形的通光孔,来自下方的光线经此孔照射到标本上。在载物台上装有标本移动器,也称推片器,其上安装的弹簧夹用于固定玻片标本,旋动推片器的两个螺旋可使玻片标本前后或左右移动。

在推片器上附有纵、横游标尺,用以标记标本的位置。游标尺由主标尺(A)和副标尺(B)组成,副标尺的分度为主标尺的 $\frac{9}{10}$ 。使用时,先看副标尺的0点位置,再看主、副标尺刻度线的重合点,依据重合点即可读出准确的数值。

图 1-4 中所示的数值应为 26.4。

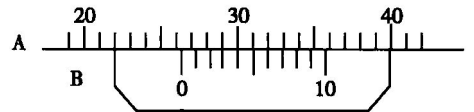


图 1-4 游标尺的用法

6. 镜柱 镜柱是连接镜臂与镜座的短柱。

7. 镜座 镜座位于最底部,是整套显微镜的基座,用于支持和稳定镜体。

## (二) 光学系统

光学系统包括目镜、物镜、聚光器、反光镜等。

1. 目镜 目镜又称接目镜,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。每台显微镜通常配置 2~3 个不同放大倍数的目镜,如“5×”、“10×”和“15×”(数字表示放大倍数)目镜,可根据不同需要选择使用,最常使用的是“10×”目镜。为方便指示视野中的某一结构,可将一小段细金属丝或头发黏附在目镜内视场光阑上作为指针;另外,还可在视场光阑上安装目镜测微尺。

2. 物镜 物镜也称接物镜,安装在物镜转换器上。每台显微镜一般有 3~4 个不同放大倍数的物镜,物镜是显微镜最主要的光学部件,决定显微镜分辨率的高低。常用物镜的放大倍数有“10×”、“40×”(或“45×”)和“100×”等几种。一般将“10×”物镜称为低倍镜,将“40×”或“45×”物镜称为高倍镜,将“100×”物镜称为油镜(这种镜头在使用时其顶端需浸在香柏油中)。在每个物镜的周缘通常都标有能反映其主要性能的参数(图 1-5),主要有放大倍数和数值孔径(如 10/0.25、40/0.65 和 100/1.25)、该物镜所要求的镜筒长度和标本上的盖玻片厚度(160/0.17,单位为 mm);另外,在油镜上还常标有“油”或“oil”字样。

不同物镜有不同的工作距离,所谓工作距离是指显微镜处于工作状态(焦距调好、物像

清晰)时,物镜最下端与盖玻片上表面之间的距离(图 1-5)。物镜的放大倍数与其工作距离成反比。当低倍镜被调节到工作距离后,可直接转换高倍镜或油镜,只需旋动细调螺旋,便可见到清晰的物像。不同放大倍数的物镜可从外形上区分,一般来说,低倍镜镜身最短,油镜镜身最长,而高倍镜的镜身长度介于两者之间。

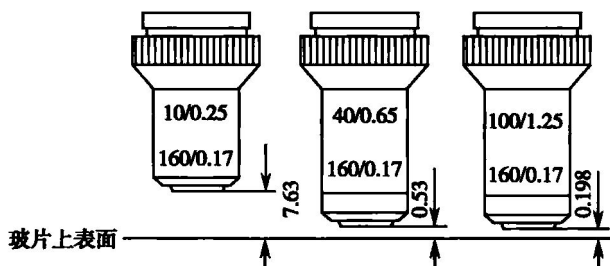


图 1-5 物镜的性能参数及工作距离

注:两箭头间距离为工作距离,单位为 mm

3. 聚光器 聚光器位于载物台通光孔的下方,由聚光镜和光圈构成,其主要功能是将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。在多数显微镜,聚光器的左下方有一调节螺旋,用以升降聚光器;升高聚光器可使光线增强,反之则光线变弱。

光圈位于聚光器的圆环内下方,由一组金属薄片组合排列而成,拨动其外侧的小柄,可使光圈的孔径开大或缩小,以调节光线的强弱。有的显微镜,光圈下方有滤光片框,可放置不同颜色的滤光片。

4. 反光镜 反光镜位于聚光器的下方,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。反光镜有平、凹两面:凹面镜有聚光作用,适于弱光和散射光下使用;光线较强时则选用平面镜。

## 二、熟悉显微镜的使用方法

### (一) 低倍镜

1. 准备 取用显微镜时,应右手握镜臂,左手托镜座,将显微镜平稳地放置在自己座位稍偏左的实验台上,镜座后缘离实验台边缘 3~6cm。

2. 调光 转动粗调螺旋,稍升高镜筒(或使载物台稍下降),转动物镜转换器,使低倍镜转动到位(即低倍镜头对准通光孔),当镜头完全到位时,可听到轻微的顿挫声。开大光圈,上升聚光器到适当位置(以聚光器上方透镜平面稍低于载物台平面的高度为宜),将反光镜凹面转向光源;然后,左眼自目镜观察(注意勿闭右眼),同时调节反光镜的角度,使视野内的光线均匀、亮度适中。

3. 装片 取需要观察的玻片标本,先对着光线用肉眼观察,了解标本的全貌;然后,将其有盖玻片的一面朝上,放置到载物台上,用推片器上的弹簧夹固定好;最后,旋动推片器的螺旋,使需要观察的标本部位处于通光孔的中央。

4. 调焦 用眼睛从侧面注视低倍镜头与玻片的距离,同时调节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约 0.5cm;然后,左眼自目镜观察,同时用左手慢慢转动粗调螺旋使镜头上升(或使载物台下降)直至视野中出现物像为止;最后,转动

细调螺旋,使视野中的物像清晰。此种状态称为准焦状态,调焦的过程也称准焦。

调焦时,如果镜头与玻片的距离已超过了1cm还未见到物像,应查找原因,加以纠正:①物镜未完全转动到位,镜头未对准通光孔,应转动到位后再观察;②标本在视野外,应移动推片器,使标本移至视野中央;③粗调节器转动过快,越过了焦点;④视野内光线过强,标本染色浅或标本未染色,应将光线适当调暗。不管是何种原因,都应严格按上述调焦步骤重新操作。

## (二) 高倍镜

1. 选择目标 在使用高倍镜前,应先用低倍镜寻找到需进一步观察的物像,并将其移至视野中央。

2. 换用高倍物镜 为防止镜头碰撞玻片,转动物镜转换器时,要从显微镜的侧面注视,缓慢地将高倍镜转动到位,即高倍镜头对准通光孔。

3. 调焦 高倍镜转动到位后,左眼自目镜观察,视野中一般可见到不太清晰的物像。此时,只需稍稍调节细调螺旋,便可使物像清晰。若视野内亮度不够,可上升聚光器、开大光圈。

如果换用高倍镜时,镜头碰到玻片,不可强行转动,应查找原因并加以纠正。常见原因包括:①玻片放反;②玻片过厚;③高倍镜头松动;④低倍镜下焦距未调好等。如果排除这些因素后,高倍镜头仍碰到玻片,则为非原装高倍镜——镜头过长。此时应先将载物台下降或使镜筒升高后再转换高倍镜头,然后在眼睛的注视下使高倍镜接近盖玻片,最后边自目镜中观察,边用粗调螺旋缓慢地使载物台下降或使镜筒升高,看到物像后再用细调螺旋准焦。

由于制造工艺上的原因,许多显微镜的低倍镜视野中心与高倍镜视野中心往往存在一定的偏差。因此,在从低倍镜转换到高倍镜观察标本时,常会给观察者迅速找到标本造成一定困难。解决这个问题的方法是:利用羊毛交叉装片来测定所用显微镜的偏心情况并绘图记录制成偏心图,依据偏心图,指导高倍镜的使用。具体操作步骤是:在高倍镜下找到羊毛交叉点并将其移至视野中央,换低倍镜观察羊毛交叉点是否还位于视野中央;如果偏离中央,其所在的位置就是偏心位置。将以上两个步骤反复操作几次,找出准确的偏心位置并绘出偏心图。在使用该台显微镜的高倍镜观察标本前,应在低倍镜下将需进一步放大的物像移至偏心位置,再转换高倍镜观察,这样,所需观察的目标就正好处在视野中央了。

## (三) 油镜

1. 选择目标 用低倍镜或高倍镜找到需观察的标本物像,并将需要进一步放大的物像移至视野中央。

2. 调光 将聚光器上升至较高位置并将光圈开至最大(油镜所需光线较强)。

3. 换用油镜 转动物镜转换器,移开低倍镜或高倍镜,在玻片标本上需观察的部位滴一滴香柏油,然后在眼睛的注视下,将油镜转动到位,此时油镜的下端应正好浸在油滴中或与油滴接触。有的显微镜油镜头过长,油镜头不能转到位,此时,可先稍稍下降载物台或上升镜筒,再将油镜头转到位,使油镜头下端浸入油滴中。

4. 调焦 左眼注视目镜,同时小心而缓慢地转动细调螺旋使载物台下降或使镜头微微上升,直至视野中出现清晰的物像。操作时不要反方向转动细调螺旋,以免镜头压碎标本或镜头损坏。

在使用油镜过程中,如需更换观察目标,为防止高倍镜头沾油,可不用高倍镜观察,即低倍镜观察目标后直接换用油镜。镜筒直立式显微镜加香柏油时,应使载物台保持水平状态。

5. 擦拭 油镜使用结束后,必须及时将镜头上的油擦拭干净。擦拭前,应将镜筒升高约1cm,并将油镜头转离通光孔;擦油镜头时,先用擦镜纸蘸少许二甲苯擦2次,再用干净的擦镜纸擦1次。至于玻片上的油,如果是有盖玻片的永久制片,可直接用上述擦油镜头的方法擦净;如果是无盖玻片的标本,则用拉纸法除去载玻片上的油,即先把一小片擦镜纸盖在含油玻片表面,再向擦镜纸上滴几滴二甲苯,趁湿将擦镜纸向一侧拉,如此反复几次,即可将玻片上的油除去。

#### (四) 注意事项

1. 取用显微镜时,应轻拿轻放。一手紧握镜臂,另一手托住镜座;禁用单手提拿,以避免零部件滑落。

2. 显微镜不可放置在实验台的边缘,应使镜座后缘离实验台边缘3~6cm。课间离开座位时,应将显微镜的倾斜关节复原,镜头转离通光孔。

3. 不可随意拆卸显微镜上的零部件,以免丢失或损坏;目镜也不要随便取出,以防灰尘落入镜筒。

4. 要经常保持显微镜的清洁,显微镜的光学部分只能用擦镜纸轻轻擦拭,不可用纱布、手帕、普通纸张或手指擦拭,以避免磨损镜面。

5. 使用镜筒直立式显微镜时,可使镜筒倾斜一定角度以方便观察,但倾斜角度不应超过 $45^\circ$ ,以防重心后移、显微镜倾倒。在观察带有液体的临时装片时,镜筒不能倾斜,以避免由于载物台倾斜而使液体流到载物台上。

6. 使用高倍镜和油镜时,切勿一边在目镜中观察,一边转动粗调螺旋上升载物台或下降镜筒,以避免镜头与玻片相撞,损坏镜头或玻片标本。正确做法是,转动粗调螺旋的同时,从显微镜的侧面注视着镜头与载物台逐渐接近。转动物镜转换器时,也应从显微镜的侧面注视。

7. 使用高倍镜和油镜观察,需更换标本片时,应先转动粗调螺旋升高镜筒或下降低载物台,使镜头与载物台间距离拉开,然后再取下标本片。

8. 在目镜上观察标本时,要养成两眼同睁、双手并用(左手转动调焦螺旋,右手移动推片器)的习惯,必要时应一边观察、一边计数或绘图。如果两眼同睁观察不习惯,可先用手挡住右眼,等左眼看清视野后再逐渐放开右眼。双眼同睁观察,既可防止眼睛疲劳,又方便绘图。

9. 如需同老师或同学讨论视野中的某一结构,可用推片器将该结构移至指针尖端处;如果镜中未装指针,可将视野看成一个周缘带有刻度的钟面(如3点、6点、9点、12点等),说明该结构位于钟面的几点钟位置。

10. 显微镜使用结束后应及时复原:先上升镜筒或下降载物台,取下标本片,物镜转离通光孔(镜筒倾斜的显微镜,恢复直立状态);然后,下降镜筒或上升载物台,使物镜与载物台相接近;使反光镜处于垂直位,下降聚光器,关闭光圈。最后,将显微镜放回镜箱中或送还显微镜室。

### 三、操作练习

取英文字母装片、羊毛交叉装片或其他标本片,按照上述操作程序反复练习低倍镜、高倍镜的使用方法。

观察字母装片时,先用肉眼直接观察一下字母的方位和大小,然后放到低倍镜下观察。视野中字母的方位发生了什么变化? 标本移动的方向与视野中物像移动的方向有何不同?

观察羊毛交叉装片时,先在低倍镜下仔细观察两根羊毛的交叉点,将交叉点移至视野中

央后换用高倍镜观察,利用细调螺旋分别对两根羊毛进行准焦,分辨出两根羊毛的上下位置。如果低倍视野中心与高倍视野中心存在偏差,可按以上介绍绘制偏心图的方法来解决。

取血涂片按照上述操作程序,依次练习低倍镜、高倍镜和油镜的使用方法。

血涂片上的血膜经瑞氏染料染色后呈蓝紫色,将蓝紫色的血膜对着通光孔,低倍镜下,调焦后可看到大量密集的红细胞及少量散在的白细胞、血小板。换用高倍镜或油镜仔细观察:红细胞无核、中央色淡;白细胞均有核,核形态不一;血小板较小,形态不规则,由巨核细胞的胞质脱落而来(图 1-6)。

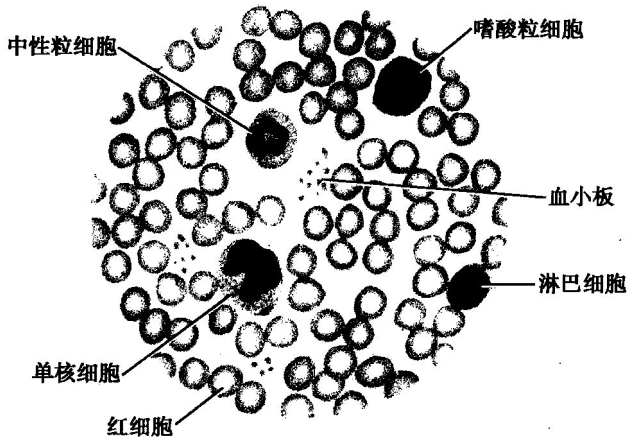


图 1-6 人血细胞

### 【分析思考】

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. 为什么调焦时要先将低倍镜与标本表面的距离调节到 0.5cm? 而油镜调焦时则先使其贴近标本表面?
3. 如果标本片放反了,可用高倍镜或油镜找到物像吗?
4. 视野亮度不均匀怎么办?
5. 低倍镜下见到的结构,换用高倍镜后找不到,怎么办?
6. 怎样才能准确而迅速地在高倍镜或油镜下找到目标?
7. 如果细调螺旋已转至极限而物像仍不清晰,应该怎么办?
8. 如何判断视野中所见污点的来源? 目镜在显微镜的成像上起什么作用?

### 【实验报告】

填图:标注图 1-7 中显微镜的部件名称。

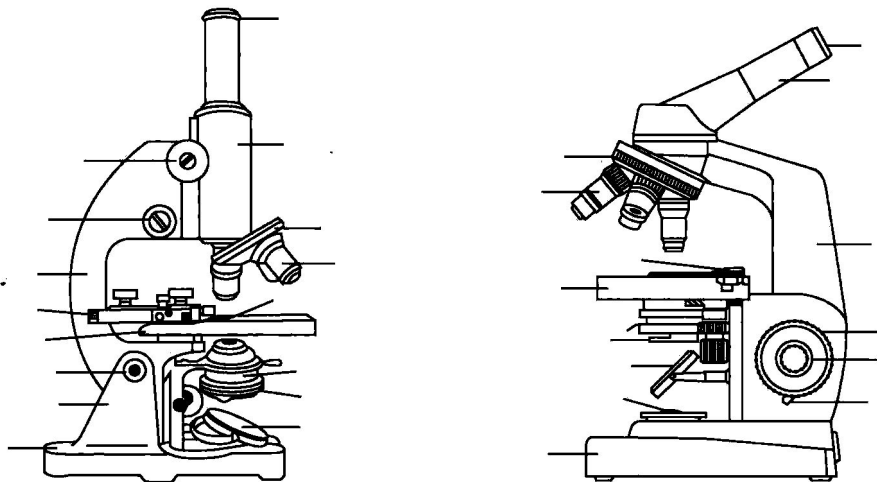


图 1-7 显微镜的部件

## 实验二 细胞的基本形态与结构

### 【目的要求】

1. 掌握临时制片技术。
2. 熟悉光镜下动、植物细胞的基本形态和结构。
3. 初步掌握显微绘图的方法。

### 【实验原理】

1. 临时装片是将要用显微镜观察的材料临时做成装片,其材料是从生物体获取的活的组织或细胞,经染色后即可用显微镜观察。根据组织结构的来源不同,临时装片有铺片、涂片及压片等之分。临时装片的制备简便易行,可用于细胞形态及基本结构的观察。

2. 细胞的形态、结构与其功能密切相关,分化程度较高的细胞更为明显。例如:具有收缩功能的肌细胞为细长形,具有感受刺激和传导冲动功能的神经细胞有长短不一的树枝状突起,游离的血细胞为圆形、椭圆形或圆饼形,哺乳类的红细胞为双凹透镜型。不论细胞的形状如何,光镜下细胞的一般结构均分为细胞膜、细胞质和细胞核 3 部分,但也有例外,哺乳类的红细胞成熟时细胞核消失。

### 【实验用品】

#### (一) 材料

洋葱、蟾蜍。

#### (二) 器材

显微镜、载玻片、盖玻片、吸水纸、擦镜纸、清洁纱布、消毒牙签、镊子、剪刀、培养皿。

#### (三) 试剂

1. 0.2%亚甲蓝 取亚甲蓝 0.2g,加蒸馏水溶至 100ml 即成。
2. 1%碘液 取碘片 1g、碘化钾 2g,加蒸馏水溶至 100ml 即成。
3. 0.65%Ringer 液(两栖类用) 取氯化钠 6.5g、氯化钾 0.14g、氯化钙 0.12g、碳酸氢钠 0.2g、磷酸二氢钠 0.01g,加蒸馏水溶至 1000ml 即成。
4. 其他试剂 生理盐水、瑞氏染液、1%甲苯胺蓝染液。

### 【实验操作】

#### (一) 人口腔黏膜上皮细胞

1. 制片 在清洁的载玻片一端滴 1 滴 0.2%亚甲蓝染液(或 1%碘液),另一端滴 1 滴生理盐水,然后用消毒牙签的钝端轻轻刮取颊部内侧的口腔黏膜,将含有上皮细胞黏液的牙签,平行放在载玻片上的染液中,来回滚动数次,以使细胞落入染液中,染色 2~3 分钟;另取一牙签,以同样方法,使口腔上皮细胞落入生理盐水中。玻片两端均加盖玻片,盖玻片周围如有多余染液,可用吸水纸吸去。

2. 镜检 观察染色一端标本时,先用低倍镜寻找细胞,可见口腔黏膜上皮细胞染成蓝色(碘液染色为黄褐色)成群或散在分布。选择分散良好的细胞,换用高倍镜观察,可见细胞呈扁椭圆形、多边形或不规则形;卵圆形细胞核位于中央,染成深蓝色,有的核中可见核仁;胞质均匀一致,浅蓝色,精细调焦,其中可见大小不等的颗粒(图 2-1)。

观察未染色的标本时,有何发现? 与染色的标本相比,如何调节视野的亮度才能取得好的观察效果?



## (二) 洋葱表皮细胞

1. 制片 取一擦净的载玻片,滴1滴1%碘液;将洋葱嫩茎用小刀切成小块,取1块肉质鳞叶,用镊子在其内表面轻轻撕下一小块表皮,再用剪刀剪成 $3\sim 4\text{mm}^2$ 的小块,置于载玻片的染液中铺平;染色2~3分钟后,盖上盖玻片,用吸水纸吸去盖玻片周围多余的染液。

2. 镜检 低倍镜下,可见许多排列整齐、彼此相连的长菱形细胞;细胞表面有较厚的细胞壁,这是植物细胞的主要特征,细胞膜因紧贴细胞壁而无法分辨。高倍镜下,可见细胞核椭圆形,位于细胞中央,染成黄色;成熟的细胞由于液泡的挤压,核位于质膜边缘;转动细调螺旋,可见核内有1~2个折光较强、染成深黄色的核仁。细胞质中可见1个或数个液泡及微细颗粒(图2-2)。

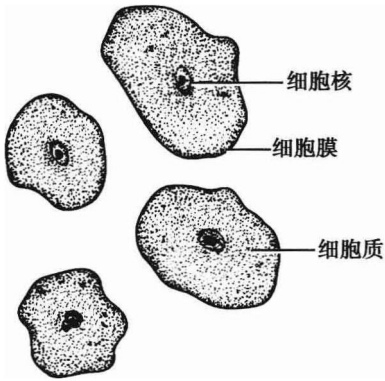


图 2-1 人口腔黏膜上皮细胞

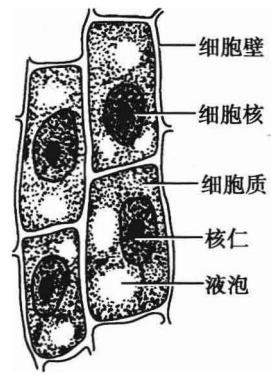


图 2-2 洋葱鳞茎表皮细胞

## (三) 蟾蜍脊髓前角运动神经细胞

1. 制备压片 取蟾蜍1只,捣毁脊髓法处死(见附录),在口裂处剪去头部,除去延脑,将手术剪插入椎管暴露处,沿脊椎背面两侧分别纵向剪开椎管,暴露乳白色的脊髓。先用手术剪剪取中段脊髓约0.5cm长,放在培养皿内,用两栖类 Ringer 液洗去血液并用滤纸将液体吸净;然后将洗净的脊髓横断面朝上放在载玻片上,滴1滴1%甲苯胺蓝染液于标本上,染色约3~5分钟;最后盖上盖片,以拇指的腹面垂直向下用力压标本,用吸水纸吸去溢出的染液,继续染色5~10分钟。

2. 镜检 低倍镜下可见脊髓前角运动神经细胞很大,形态不规则,多呈三角形或星形等;胞质染成蓝紫色,中央有圆形的细胞核,部分核内可看到大而圆的核仁;细胞向周围伸出的突起是神经突起。染色较深的小细胞是神经胶质细胞(图2-3)。镜下还可看到什么细胞?

## (四) 蟾蜍肝细胞

1. 制备压片 剪开蟾蜍胸腹腔,暴露出暗红色的肝,在肝的边缘处取 $2\text{mm}^3$ 左右一小块,放在培养皿内(注意,标本量一定不能太多)。用两栖类 Ringer 液清洗,并用镊子轻压将肝组织中的血挤出,然后放在载玻片上,用眼科剪将肝组织块

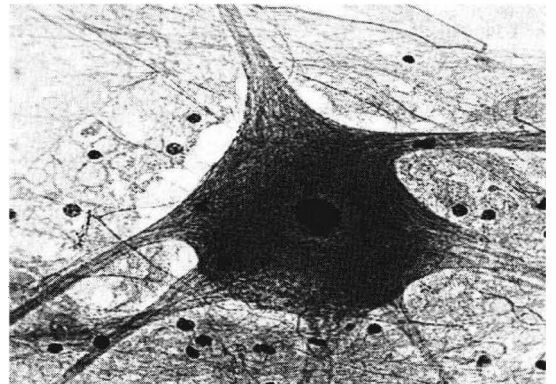


图 2-3 脊髓前角运动神经细胞