



21世纪高等医药院校基础医学实验教学系列规划教材

细胞生物学

实验教学指导

**XIBAOSHENGWUXUE
SHIYAN JIAOXUE ZHIDAO**

● 主编 钟慧军 陆 宏



第四军医大学出版社



教育部普通高等教育生物学类专业教学指导委员会推荐教材

细胞生物学

实验教程与指导

主编 王学军 副主编 王学军 王学军
编者 王学军 王学军 王学军
主审 王学军 王学军 王学军

人民邮电出版社 人民邮电出版社

21 世纪高等医药院校基础医学实验教学系列规划教材
(供临床、预防、护理、中医、口腔、检验、影像等专业使用)

细胞生物学实验教学指导

主 编 钟慧军 陆 宏

副主编 张明亮 党 洁

编 者 (按姓氏笔画排序)

张明亮 陆 宏 钟慧军

党 洁 焦海燕 霍正浩

图书在版编目(CIP)数据

细胞生物学实验教学指导/钟慧军,陆宏主编. —西安:第四军医大学出版社,2009.7
21 世纪高等医药院校基础医学实验教学系列规划教材
ISBN 978 - 7 - 81086 - 651 - 4

I. 细… II. ①钟… ②陆… III. 细胞生物学 - 实验 - 医学院校 - 教学参考资料
IV. Q2 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 119471 号

细胞生物学实验教学指导

主 编 钟慧军 陆 宏
责任编辑 王 坤
出版发行 第四军医大学出版社
地 址 西安市长乐西路 17 号(邮编:710032)
电 话 029 - 84776765
传 真 029 - 84776764
网 址 <http://press.fmmu.sn.cn>
印 刷 人民日报社西安印务中心
版 次 2009 年 7 月第 1 版 2009 年 7 月第 1 次印刷
开 本 787 × 1092 1/16
印 张 8.25 彩插 4 页
字 数 200 千字
书 号 ISBN 978 - 7 - 81086 - 651 - 4/Q · 24
定 价 16.00 元

(版权所有 盗版必究)

序

医学是一门实践性很强的学科，实验教学是医学教育中的重要环节，是培养学生分析问题，解决问题能力的重要手段，也是培养学生创新思维和综合素质的重要途径。高等医学教育存在着自身的特殊性，涉及的课程和学科门类多，实践教学比重大，加之教学内容更新快，使得教材必须不断根据人才培养目标进行改进。《21 世纪高等医药院校基础医学实验教学系列规划教材》是由宁夏医科大学国家级实验教学示范中心与山西医科大学共同编写的基础医学实验指导丛书。本套教材是以教育部倡导的以科学发展观统领医学教育全局，培养符合现代医学模式和适应我国卫生服务发展要求的人才为指导思想，以加强学生终身学习能力和创新能力培养为目标进行编写的。全套教材由《细胞生物学实验教学指导》《医用化学实验教学指导》《组织学与胚胎学实验教学指导》《生物化学实验教学指导》《病理学实验教学指导》《生理学实验教学指导》《医学微生物学实验教学指导》《医学免疫学实验教学指导》和《人体寄生虫学实验教学指导》等九本实验教材组成。在保留了经典和验证性实验的基础上，本套教材加大了现代医学研究新技术和新方法的比重，如质粒 DNA 的提取和酶切鉴定、PCR 技术等。同时，本套教材还编入了综合性实验和设计性实验，旨在培养学生的创新精神和综合分析问题、解决问题的能力。该书解决了目前五年制医学院校实验改革新内容不断涌现但针对性强的指导图书较少的矛盾。本套书的主编都是各专业的专家，他们长年的经验积累和开创性的研究工作成就了本套书的专业水准。

本套教材是根据国家规划教材的内容、按照五年制医学院校实用性人才培养要求编写的。其内容注重培养学生的基本实验技能和理论联系实际的科学作风，是学生在实验课学习过程中必不可少的配套教材。

由于医学教育的特殊性，学生课外的预习和复习构成了高等医学教育的主要组成部分。因此，本套教材的大部分主编将自测题和参考答案纳入本实验指导当中，以便于学习者在自学的同时进行自我评判。

本套教材适合于五年制高等医学院校的临床医学、预防、护理、中医、麻醉、影像、口腔、检验、药学等专业的本科教学。在教材编写的过程中，第四军医大学出版社的领导和专家给予了热情的指导，在此表示衷心的感谢。

由于我们水平有限，不足或错误之处还望各位同仁及时批评指正。

王燕蓉

2009年6月

前 言

细胞生物学是生命科学领域的前沿学科，也是重要的基础学科之一。同时，细胞生物学是一门实验性较强的学科，它的任何一项研究成果都离不开实验的帮助。而医学细胞生物学在医学理论研究及临床实践研究中则起着极大的作用。目前，医学领域面临的许多重大问题，最终解决也要依赖于细胞生物学研究的突破。

本书主要适用于生物及医学本科各专业学生，对研究生甚至生命科学其他分支学科的师生们也有一定的参考价值。该书的特点是：实用、易行、针对性强、便于实施，有助于加强基础理论与实践的联系，并对培养学生的动手能力和掌握最基本的操作技能方面有一定的帮助。曾有哲人说过：“没有理论的实践是盲目的实践。”因此，本书附有细胞生物学习题，可以帮助学生进一步对理论学习进行检验。我们相信从事细胞生物学及医学研究的人们将从本书中获益匪浅。

本书共分三篇。第一篇为基础性实验，包括九个实验，安排了显微镜技术、细胞结构与成分的显示技术、细胞生理等内容。第二篇为选择性实验，包括五个实验，安排了细胞培养和分析以及染色体技术等内容。第三篇是强化训练，我们根据细胞生物学教学大纲和教学进度按章编写了相关习题，共十三章，用以帮助学生在课余时间对细胞生物学理论知识进行复习和巩固。

虽然我们对书稿进行了精心的修改，但因水平有限，难免出现不足甚至错误的地方，恳请广大同行及读者批评指正。

钟慧军 陆宏

2009年6月

目 录

绪论	(1)
----------	-------

第一篇 基础性实验

实验一 光学显微镜的结构和使用	(5)
实验二 动、植物细胞基本形态和结构的观察	(9)
实验三 细胞化学	(13)
实验四 细胞膜的生理	(17)
实验五 细胞计数	(20)
实验六 细胞骨架及细胞器的观察	(22)
实验七 细胞的有丝分裂	(25)
实验八 减数分裂	(28)

第二篇 选择性实验

实验九 人类外周血淋巴细胞的培养	(35)
实验十 人类外周血淋巴细胞染色体标本的制备	(37)
实验十一 正常人染色体的形态及核型分析	(39)
实验十二 细胞的原代培养和传代培养	(41)
实验十三 培养细胞的冻存与复苏	(45)

第三篇 强化训练

第一章 细胞生物学概论	(51)
第二章 细胞生物学研究方法	(55)
第三章 细胞的分子基础	(60)
第四章 细胞膜和细胞表面	(64)
第五章 信号转导	(72)

第六章 细胞连接与细胞外基质	(78)
第七章 内膜系统和核糖体	(82)
第八章 线粒体	(90)
第九章 细胞骨架	(95)
第十章 细胞核	(102)
第十一章 细胞周期	(110)
第十二章 细胞分化	(116)
第十三章 细胞衰老与凋亡	(119)
参考文献	(121)

绪 论

一、医学细胞生物学实验课的目的和要求

医学细胞生物学实验课是医学细胞生物学教学的重要组成部分,它既与医学细胞生物学课堂讲授的理论部分密切联系,同时又有它独特的目的和要求:

1. 实验是科学理论的实践与论证,通过实验,使学生从感性认识加深对课堂所获得的理性知识的认识和理解。
2. 通过光学显微镜的使用、临时标本的制作、细胞培养等技术操作,使学生掌握医学细胞生物学的基本实验方法和技能。
3. 通过实验,培养学生观察、比较、分析、综合等科学思维方法、独立工作能力和实事求是的科学态度。
4. 通过实验,使学生获得书写细胞生物实验报告、绘图、制表等方面的基本知识和技能训练。

二、医学细胞生物学实验报告的写作

实验报告是科学研究的记录,同学们必须学会客观地、真实地记载实验过程和结果。实验报告的形式一般可分以下三种:

1. 文字报告 要求学生将观察所得和实验结果客观地用文字给以准确、详细的描述和记录。文字力求简洁明了,条理清楚。
2. 绘图 绘图是医学细胞生物学实验中常用的报告形式之一,它既是根据所观察标本的真实记录和研究资料,又可通过描绘学习更精细观察描述。医学生物学实验绘图不同于一般艺术性绘图。医学细胞生物学绘图的基本要求:①绘图前应对标本加以仔细观察研究,并在正确的理解后方可动手绘制;②绘图要求洁净明了,整齐有序,图的位置大小,要求分配适宜,线条力求匀整;③图绘好后,各部结构要用铅笔详细标注名称。
3. 制表 将观察所得或实验结果,设计一个表格,将有关结果逐项填入,表示其相应关系。

三、实验室规则

1. 做好课前预习:实验课前,要认真阅读实验指导及与教材的有关内容,明确实验目的、要求和注意事项,了解实验内容、方法和步骤。做到心中有数、头脑清楚做实验。每次实验课必须带全实验指导、实验报告册、教科书以及文具用品(铅笔、三角板等),以备参考和使用。

2. 保持实验室肃静、整洁:进入实验室后,要保持安静,不准高声喧哗,按号入座,保持良好的实验秩序;穿好白大衣,书籍物品要放置整齐。实验前要认真检查所用仪器、药品等是否完好、齐全,如有缺损,应及时向老师报告,予以调整补齐。未经老师宣布,不得擅自进行实验。注意保持室内整洁,不准乱丢污物,严禁吸烟。实验用过的器材要清洗干净,仪器要按规定擦拭,做到整洁。

3. 严格操作:实验时,应按照实验指导,认真操作,仔细观察,做好实验记录,以加深理解和记忆,培养分析问题和解决问题的能力,认真完成实验报告。

4. 爱护标本、器材和仪器设备,对贵重精密仪器如显微镜等,应做到细心操作、精心保管。如有损坏,应及时报告、主动登记,严格遵守损坏赔偿制度。节约实验材料、药品试剂、水电,杜绝浪费现象。

5. 实验结束后,应将实验仪器、用品等物放置整齐,桌面收拾干净,待实验总结完毕后方可离开实验室。值日生要认真做好室内清洁卫生。

(党洁)

第一篇



基础性实验

实验一 光学显微镜的结构和使用

一、课前准备

1. 了解光学显微镜使用的重要性。
2. 了解光学显微镜的基本原理。

二、目的和要求

1. 熟悉光学显微镜各部分的结构及功能。
2. 掌握低倍镜、高倍镜和油镜的正确使用方法。

三、材料和用品

普通光学显微镜(microscope),擦镜纸(lens paper),香柏油(cedar wood oil),二甲苯(xyleneol),文字片,人血涂片。

四、内容和方法

光学显微镜是观察微观世界的重要工具,没有它就无法打开微观世界的大门。光学显微镜不仅可以用来观察细胞基本形态和一些内部结构,同时还可以通过与其他技术的结合,进行细胞化学成分的定位、定性等功能方面的研究,是基础医学和临床医学研究中用途最广的仪器。学习和掌握普通光学显微镜的结构功能和操作方法,是每个现代医学生必须掌握的基本技能。

(一) 普通光学显微镜的结构

光学显微镜一般由机械部分、照明部分和光学放大部分组成(图1-1)。

1. 机械部分

(1) 镜座(base):为显微镜最下部分,一般为马蹄形,用以稳定和支持整个显微镜。电光源显微镜一般在镜座内装有照明电源等构造。

(2) 镜柱(pillar):为联系镜座与镜臂之间的部分。

(3) 调节器(regulator):位于镜柱下方两侧,为一组组合旋钮,能用来调节焦距。

外侧大旋钮为粗准焦螺旋,转动时可使镜筒作较大距离的升降,一般用于低倍镜调焦。内侧小旋钮为细准焦螺旋,可使镜筒作微小距离的升降,用于高倍镜、油镜调焦。

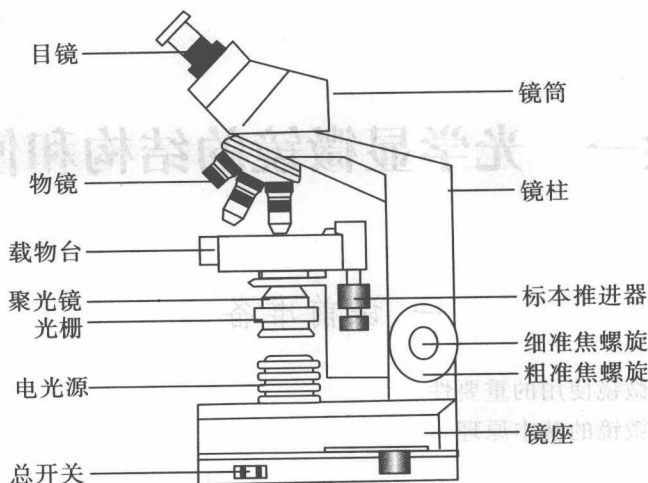


图 1-1 光学显微镜结构示意图

(4) 镜臂 (arm): 为弓形部分, 位于镜柱上方, 用以支持镜筒和镜台。在搬运显微镜的过程中, 须手握镜臂。

(5) 镜台/载物台 (stage): 位于镜臂下端的方平台, 为放置玻片或标本用。镜台中心有一个孔, 可使光线通过, 称为通光孔。镜台上有标尺和压片夹, 用以定位和固定玻片标本。在载物台一侧下方装有标本推进器, 为一组组合旋钮, 通过转动旋钮可使玻片前后左右移动。

(6) 镜筒 (light tube): 位于镜臂的前方, 上端装有目镜, 下端装有物镜转换器。根据镜筒的数目, 光镜一般可分为单筒式和双筒式, 目前较常用的是双筒式电光源显微镜。

(7) 物镜转换器 (nosepiece): 镜筒下端的圆盘状结构, 其下面可连接 3~4 个不同放大倍数的物镜, 旋转时可更换物镜。

2. 照明部分

(1) 电光源 (electric light source): 位于镜座正中, 一般在镜座一侧装有电光源总开关, 通过旋转旋钮用于打开光源并调节光线强弱。

(2) 聚光镜 (condenser): 位于载物台下方, 由一组透镜组成, 可使光线聚集在标本上。一般在其一侧装有旋钮, 称为聚光镜升降器。旋转该旋钮可使聚光镜上下移动, 用于调节光线强弱。

(3) 光栅 (aperture): 位于聚光镜下方, 由一组活动金属片组成, 构成一个可开关的孔。在其外侧有一小柄, 可以调节控制光线通过。在光栅下方一般还装有滤光片。

3. 光学放大部分

(1) 目镜 (eyepieces): 每台显微镜通常有 3~4 个目镜, 上有 5×、10×、15× 等符号可以区别, 数字越大, 放大倍数越高。一般装在镜筒上的常是 10× 的目镜。

(2) 物镜 (objectives): 普通光学显微镜一般有 3 个物镜, 放大倍数分别为 10× (低倍镜)、40× (高倍镜)、100× (油镜)。有些显微镜还安装有超低倍镜, 放大倍数为 4×, 一般仅在观察较大物像时使用。在每个物镜上通常刻有能反映其主要性能的参数, 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 mm)。各种物镜的比较见表 1-1。

表 1-1 三种物镜的比较

镜头	镜身	放大倍数	标示线颜色	工作距离(mm)
低倍镜	短	10	黄色	7
高倍镜	较长	40	蓝色	0.5
油镜	长	100	白色	0.2

显微镜放大倍数 = 目镜放大倍 × 物镜放大倍数,如高倍镜放大倍数 = $10 \times 40 = 400$ 倍

(二) 光学显微镜的使用方法

1. 低倍镜的使用

(1) 检查:检查显微镜各部分结构是否完整,如发现有缺损或性能不良时,应立即报告老师,请求处理。

(2) 准备:将显微镜放在实验桌上偏左方,镜座与桌边相距 6~7cm。转动粗准焦螺旋,略微上升镜筒。转动物镜转换器,使低倍镜对准镜台的圆孔即通光孔。

(3) 对光:先检查光栅是否打开,聚光镜是否上升,打开电光源,使光线投入镜筒中,同时调节光源开关,直到整个视野呈青白色的光亮为止。

(4) 置片:取被观察的玻片标本置于镜台上,用压片夹固定,注意玻片一定要正面朝上。用标本推进器调节玻片,使片中的标本位于通光孔的正中央,物镜的正下方。

(5) 调整工作距离:要在显微镜内清晰地看到标本的物像,必须使标本和物镜之间的距离符合于该物镜的工作距离。以江南 JNOEC XS-212-201 型电光源双目显微镜为例,其工作距离在低倍镜为 7.63mm,高倍镜为 0.5mm,油镜为 0.198mm。在操作过程中,先从侧面注视低倍镜,转动粗准焦螺旋,使镜筒徐徐下降到距离玻片 5mm 处为止(注意:不可一面在目镜中观察,一面下降镜头,这样做可能在不知不觉中使镜头压碎标本,甚至可能损坏物镜)。然后用双眼在目镜中观察,同时调节粗准焦螺旋,使镜筒慢慢上升,直到视野中出现标本物像为止。再用细准焦螺旋调节即可得到最清晰的物像。

以上过程应在掌握显微镜各部分结构和性能的基础上,结合玻片标本观察,反复练习。

2. 高倍镜的使用

(1) 依照前述“低倍镜使用”操作步骤,先用低倍镜找到物像。

(2) 在低倍镜下将需要观察的标本或标本的一部分移至视野中央。

(3) 转动物镜转换器,调换高倍镜。然后微微向上、下转动细准焦螺旋(切记不可用粗准焦螺旋),至物像清晰为止。若光线太强或太弱,可调节光栅或升降聚光器,求得最适的亮度。

3. 油镜的使用

(1) 依照前述操作步骤,先用低倍镜或高倍镜找到物像,并将需观察的标本或标本的一部分移至视野中央。

(2) 转动物镜转换器移开镜筒,在玻片上需观察的部位滴一滴香柏油,然后转动物镜转换器使油镜到位(此时油镜前端浸在香柏油中)。

(3) 从目镜中观察,略微转动细准焦螺旋进行调节,直到视野内出现物像为止。如果没

有出现物像,应重新调整工作距离或请教老师。找到物像后再利用聚光镜和光栅选择最适合的光线即可观察。

(4)油镜使用完毕后,用擦镜纸沾少许二甲苯或擦镜剂,分别将油镜及玻片上的香柏油擦干净。如果高倍镜在使用过程中也沾染有香柏油,需同时予以擦拭。

4. 操作练习

(1)文字装片(用于练习低倍镜和高倍镜的使用):取一张文字装片,先用肉眼看清字母,再严格按上述程序,选用低倍镜观察。找到物像,注意移动的方向,物像移动的方向与玻片移动方向是否一致?镜下观察的字母是正像还是反像?在用高倍镜观察之前,先将物像移向视野中央再转换镜头,否则由于视野范围变小可能会找不到物像。反复操作,以求熟练。

(2)人血涂片:在置片时,注意片子的正反,玻片材料上如无盖玻片,用红铅笔标记的一面为正。依次练习高倍镜和油镜的操作。用高倍镜观察,可看到人血涂片中有许多红色、中心透亮的无核的圆盘状球形细胞即红细胞。在红细胞之间分散着数目很少的白细胞,它们一般较红细胞稍微大些,细胞内具有细胞核。试找一个白细胞,按前面所述的步骤进行油镜的操作。

(三)使用显微镜时应注意的事项

1. 显微镜是精密仪器,使用时必须严格地按规程进行操作。
2. 保持显微镜清洁,不用时应及时用镜罩罩好,放回镜箱。机械部分有灰尘可用干净纱布擦拭,光学部分如有污垢切勿用手、纱布和毛巾擦拭,必须用擦镜纸轻擦,如有污垢,可沾少许二甲苯擦拭。
3. 在镜检标本时应睁开双眼,且须按照从低倍镜到高倍镜再到油镜的顺序。
4. 临时制片时,应注意将载玻片上、下多余水分擦去,再放置镜台上。
5. 使用油镜时,必须先先在玻片标本滴上镜油才能进行观察,用毕后应立即将油擦净。
6. 如遇机械零件不灵,使用困难,切勿随意用力转动,更不可任意拆修,应立即报告指导教师协助排除故障。
7. 显微镜使用完毕,应取出玻片标本,并将物镜转成八字形偏离镜台孔,下降镜筒,使之靠近但不能接触载物台,然后罩上镜罩。

五、实验报告

填图:填注显微镜各部件的结构名称。

六、思考题

1. 使用显微镜观察标本时为什么必须按照从低倍镜到高倍镜再到油镜的顺序进行?
2. 如果标本玻片放反了,可用高倍镜或油镜找到标本物像吗?为什么?

(党洁)