

医学细胞生物学 实验 指 导

(试用版)

主编 费 瑞
编者 邹冬辉 高元奇
费 瑜 张静敏

白求恩医科大学
一九九七·十一

前 言

细胞生物学是生命科学中的前沿学科,发展异常迅速,它正在渗透到基础医学和临床医学的各个领域,因而它在医学教育中的地位愈来愈重要,成为医生必需掌握的重要医学基础课。鉴于此,我校从1996年起在本科教学中正式开设细胞生物学,同时保留了适量的生物学内容,本实验指导正是为此应运而生。

一、实验目的和任务

细胞生物学实验是整个细胞生物学教学中的一个重要组成部分,它与细胞生物学理论课教学有密切联系,同时其自身又有特殊的目的、任务和内容。

1. 验证理论:验证、巩固、加深和充实理论课教学中所学的基本理论知识,是细胞生物学实验教学目的之一,但不是最重要的目的。

2. 基本技能训练:细胞生物学研究的基本技能,如显微镜使用、显微标本制作、细胞器分离和鉴定、细胞培养技术等,是细胞生物学研究的最基本技能,是必须掌握的。

3. 能力培养:细胞生物学实验并不是单纯地验证理论,也不是单纯地为掌握某种细胞结构、化学成分和功能,更重要的是通过对细胞生命现象的观察和亲手操作,培养学生实事求是的科学态度和独立分析问题解决问题的能力,从而获得观察生命现象的基本素质。

二、实验内容

编入本实验指导中的实验共有17项,这些是细胞生物学研究中,部分最基本的实验技术和方法(详见指导目录),是目前我校各层次教学的通用教材,具体操作时可根据教学时数、内容和层次做适当调整。

三、实验进行程序

1. 预习:学生课前应认真预习本实验指导及教材有关内容,熟悉实验方法、步骤、预测可能出现的实验结果。

2. 课堂讲授:实验课教学的课堂讲授只是简单地介绍实验方法、强调注意事项,以便留出更多时间给学生独立操作,所以,课堂讲授只是预习内容的重点强化。

3. 操作和观察:只要条件允许,实验应由学生个人独立进行,只有对实验过程做到心中有数,操作过程才不会出错。实验进行中,要做到精确观察,准确记录。

4. 实验报告或作业:实验报告或作业必须根据自己的实验结果独立完成,并在当次课堂内上交,无论文字报告,还是制表或绘图都要求清晰、准确,对实验结果分析有理、有据。

四、实验室规则

1. 课前必须预习实验指导和教材中与本次实验有关的内容,对实验目的、内容和主要操作过程有所了解。
2. 不迟到、不早退、不得无故旷课,病假、事假需要有系办证明。
3. 要携带实验指导、课本、实验报告纸和所需绘图文具,如铅笔、橡皮、格尺、削笔刀等。
4. 进入实验室之前要换好白大衣及拖鞋。
5. 上课时,要在任课教师讲解后,按实验指导及教师的要求进行实验,切勿随意操作,以免损坏实验器材、材料和药品,影响实验的正常进行。
6. 课上要认真、耐心和细致,严禁谈笑和喧哗,不得随意走动或进行与本次实验无关的活动,以保持课堂肃静。
7. 要爱护实验仪器和用品,节省实验材料每次实验前都要检查所用显微镜和其他实验器材是否完好和齐全,如有缺损应及时向任课教师报告,否则一切后果自己负责。
8. 实验结束后,应按要求完成实验报告和作业,并对实验器材进行清点,同时要洗净、擦干、放好,并将实验台面收拾干净。
9. 对实验用过的废物、动物尸体等要放在指定地点,不得随意乱扔以保持实验室清洁。
10. 每次实验结束都应按排值日,负责将实验室彻底清扫干净,并将座椅摆放整齐后方可离去。

(王忠山)

目 录

前言.....	1
实验一 显微镜的结构及使用方法.....	1
实验二 细胞内化学成份的测定.....	7
实验三 观察细胞的生理活动	10
实验四 ABO 血型的测定	12
实验五 细胞原代培养及计数	15
实验六 细胞融合技术	18
实验七 细胞活体染色	20
实验八 细胞组分的分级分离	22
实验九 细胞中微丝的染色及观察	24
实验十 小白鼠骨髓细胞染色体标本的制备和观察	26
实验十一 人类染色体及核仁形成区的观察	28
实验十二 人类染色体的核型分析	30
实验十三 人类染色体 G 显带和姊妹染色单体交换	32
实验十四 观察人的 X 染色质和鼓槌	36
实验十五 观察细胞的显微和超微结构	38
实验十六 观察细胞的有丝分裂和减数分裂	42
实验十七 电子显微镜标本的制备及观察(录像·参观)	47
附录一 常用染液和试剂的配制	52
附录二 细胞生物学绘图方法和注意事项	58
附录三 常用解剖器械的使用	59
附录四 无菌操作的注意事项	60
附录五 常用的实验动物	61
主要参考文献	64
致谢	65

实验一 显微镜的结构及使用方法

一、实验目的

掌握普通光学显微镜的结构及其使用方法，了解不同细胞的基本形态，学会使用显微测微尺。

二、实验准备

1. 材料：蟾蜍血片、蟾蜍皮肤切片、蟾蜍膀胱平滑肌切片、蟾蜍骨骼肌切片、猪脊髓神经节切片。
2. 仪器和器材：普通光学显微镜、目镜测微尺、镜台测微尺、擦镜纸。
3. 试剂：二甲苯。

三、实验内容

（一）显微镜的结构

显微镜（Microscope）是重要的光学仪器，它的样式很多，其主要结构都是由三部分组成，即：机械部分、照明部分和光学部分（图 1—1）。

1. 机械部分

它是显微镜的支架结构，主要包括镜座、镜柱、镜臂、镜筒、物镜转换器、载物台和调节器。

（1）镜座：它是显微镜的基座，用以支持整个镜体的平稳。它常呈马蹄铁形、圆形或方形，有的显微镜在镜座内装有照明光源。

（2）镜柱：它是镜座向上直立的短柱，它常与镜座和镜臂相连，也具有支持作用。

（3）镜臂：它是与镜柱相连的结构，适于手握。有的显微镜（如：L1100 型）的镜柱和镜臂合起来统称为主体。

（4）镜筒：它是附在镜臂前方的筒状结构，由金属制成，其上端装有目镜，下端装有物镜转换器。

（5）物镜转换器：它常装在镜筒的下端，呈圆盘状，分上下两片。上片固定在镜筒下端，其正后方有一固定卡，下片可自由转动，并且有 3—4 个螺旋孔，用以安装不同倍数的物镜，下片外缘正对螺旋孔处各有一个缺刻，当转换物镜时下片的缺刻与上片的固定卡相扣合，此时物镜和镜筒同轴，便于观察。

（6）载物台：它是位于物镜转换器下方一个方形平台，用于放置玻片标本。台面水平并与显微镜的光轴垂直，在台面的中央有一圆孔称通光孔，是用来通透光线的。载物

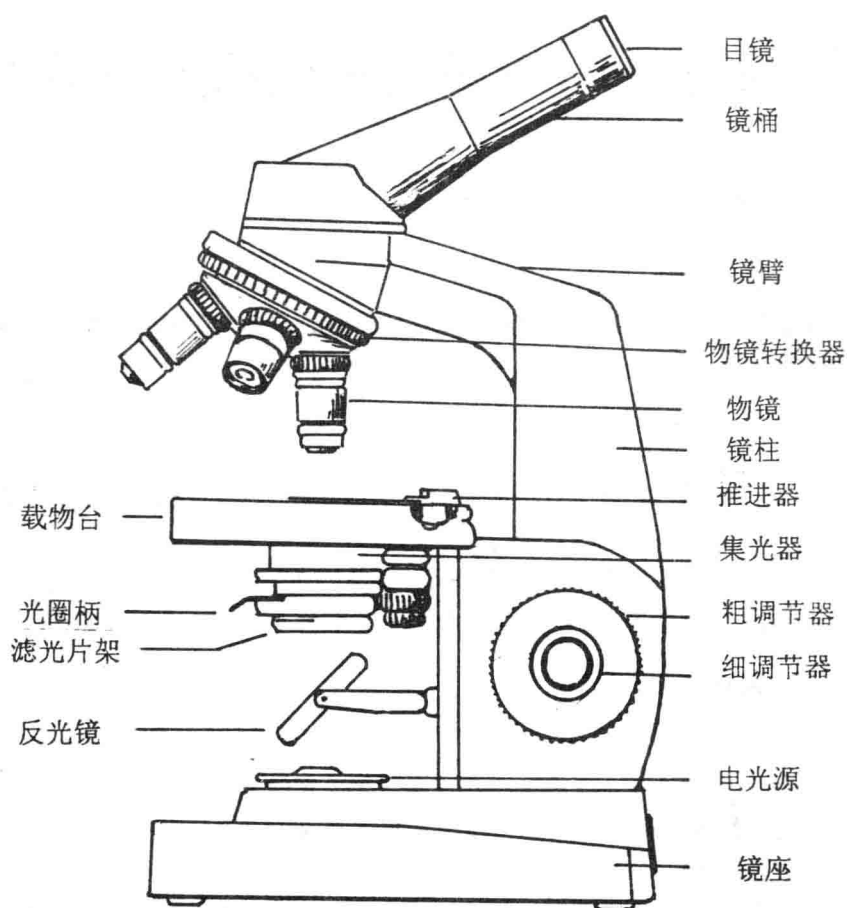


图 1—1 显微镜的结构

台上装有推进器，其左侧附有镰刀形的弹簧卡，用来夹持玻片标本；右侧有两个螺旋，转动螺旋可使标本前后左右移动，利于观察标本。此外推进器上还有标尺，可用来确定标本在视野的位置。

(7) 调节器：它是装在主体上的螺旋状结构，分大小两个螺旋，呈套叠状。转动大螺旋（粗调节器）可使载物台快速和大幅度升降，因而可将物像迅速收入视野，通常在低倍镜下寻找物像时使用；转动小螺旋（细调节器），可使载物台缓慢地升降，不易觉察，多在高倍镜或油镜下调焦时使用，以获得清晰图像。

2. 照明部分

在载物台的下方装有一套照明装置，它由集光器、滤光器和反光镜或电光源组成。

(1) 集光器：也称聚光器，它位于载物台的下方，由聚光镜和光圈组成，其作用是把光线集中到所要观察的标本上。在其左侧有一调节螺旋，可使集光器上升或下降，上升时可使视野亮度增强，下降时可使视野亮度减弱。

聚光镜：是由一片或数片透镜组成，其作用相当于一个凸透镜，可把光线进一步集中在标本上，以增加标本的亮度。

光圈：又称可变光阑，位于聚光镜的下端由十几张金属薄片围成，中间有圆孔，光圈的外侧有一小柄，推动小柄可调节光圈孔径的大小，以改变视野的亮度。

(2) 滤光器：它常安装在光圈下方，由滤光片和滤光架构成，其作用是在观察标本和显微摄影时，选择某一波段的光线，而排除不需要的光线。

(3) 反光镜：它位于集光器下方，常与镜柱相连，可随意转动，其作用是改变光线的方向和调整光线的强弱。它由两面构成：一面平展，一面凹陷。当光强时，用平面镜；而当光弱时，则用凹面镜。在电光源显微镜中，光线可通过镜座中装有的反射镜或反射棱镜反射到集光器中。

(4) 光源：显微镜的光源有自然光源和电光源两种。自然光源是由太阳折射所发出的光；而电光源则是由日光灯或白炽灯等所发出的光，其作用是为显微镜提供光线。

3. 光学部分

它是显微镜的最重要部分，主要由目镜和物镜构成。

(1) 目镜：也称接目镜，它位于镜筒的最上端，其上标有放大倍数。一般说来，每台显微镜都配有 2—3 个目镜，用于观察不同放大倍数的需要。在目镜内常装有一指针，用以标示标本的位置，另外在目镜筒下方还有一挡片是用于安装目镜测微尺的。

(2) 物镜：又称接物镜，它常装在镜筒下端与物镜转换器的螺旋孔相连，一般有 3—4 个。在镜筒侧面常标有主要性能指标，如放大倍数、镜口率、镜筒长度和所需要盖片厚度。

放大倍数主要有 4×、10×、40×和 100×四种，其中 4×和 10×为低倍镜，40×为高倍镜，100×为油镜。镜头长度随倍数的增加依次增长。另外在不同放大倍数的物镜筒上还标有不同颜色的环，以用于区别。

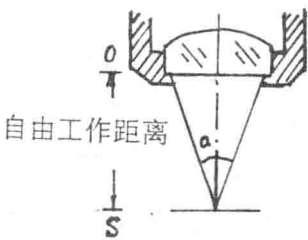


图 1—2 镜口率

镜口率 (NA) (图 1—2)：它反映了镜头分辨力的大小，其数字越大，表示分辨力越高，一般显微镜的物镜镜口率数据如下表：

物 镜	镜 口 率	工作距离 (mm)
10×	0.25	7.63
40×	0.65	0.50
100×	1.25	0.193

表中的工作距离是指在观察标本，并把物像调到最清晰的程度时，物镜下表面与盖片之间的距离。物镜的放大倍数越大，其工作距离越小。

镜筒长度是指从目镜筒上缘到物镜转换器螺旋口下端的距离。常用的为 160 或 170 毫米。

显微镜的放大倍数是目镜的放大倍数与物镜放大倍数的乘积。如目镜 10×，物镜为 40×，其放大倍数就是 10×40=400 倍。

(二) 显微镜的使用方法

1. 低倍镜的使用方法

准备：(1) 右手握镜臂，左手托镜座，将显微镜从镜箱中取出，镜筒朝前放在自己座位前方偏左的实验台上，使镜座后缘距台边 6—7cm。

(2) 适当调整座位的高度，使操作者能舒适坐着进行操作。

(3) 向内转动粗调节器，使载物台略为上升，再转动转换器，让转换器边缘的缺刻与固定卡相扣合，以使低倍镜的光轴对准镜筒中心和通光孔。

(4) 打开光圈，上升集光器。

对光：左眼从目镜观察，同时两手转动反光镜，使镜面正对光源，直至镜内出现均匀的圆形亮光，这个发亮的范围称为视野。

放置标本：左手取所观察的玻片标本，将有盖玻片的一面朝上，从显微镜左侧放到载物台上；右手用弹簧卡卡住载玻片，然后转动推进器螺旋将所要观察的标本调至通光孔的中央。

调节焦距：调焦是初学者较难掌握的一步，必须反复练习，才能熟练掌握。为了能得到清晰的物像，必须调节物镜与标本之间的距离，使它与物镜的工作距离相符合，这种操作叫调焦。首先，眼睛从侧面注视低倍镜，双手内旋粗调节器，使载物台缓慢上升直至物镜的工作距离为 3mm，然后，一边从目镜观察，一边用手外旋粗调节器，使载物台缓慢下降，直到视野内出现清晰的物像为止。

注意：这一操作过程有四种可能视野内不见物像：(1) 要观察的标本不在视野内，这需要调整玻片位置。(2) 焦距没有调好，物镜头与玻片标本间的距离大于或小于低(高)倍镜的工作距离，这需要重新调节焦距。(3) 标本太小，需用推进器反复找或更换标本。(4) 标本的颜色浅或透明，这应调节聚光镜或光圈，使视野变暗。

2. 高倍镜的使用方法

在使用高倍镜之前，必须在低倍镜下找到清晰的物像，并把欲放大的部位移到视野的正中央，然后从侧面注视，右手转动转换器，换上高倍镜，再用左眼观察，此时大都能见到一个不太清晰的物像，接着再用细调节器调节焦距，直至见到清晰的物像。注意，如果不出现物像或物像模糊，可查看切片是否放反了。

3. 油镜的使用方法

在使用油镜时，必须先经低、高倍镜观察找到合适部位和清晰的物像，并将要进一步放大仔细观察的部位移到视野中央，然后从侧面注视，转动转换器，使物镜头离开通光孔，并在需要观察部位的盖片上加一滴香柏油，换上油镜头，使其浸在油滴中，用左眼观察，同时转动细调节器，直至出现清晰的物像。

注意：在转动转换器时，一定要认清油镜以免污染其他镜头。另外油镜使用完毕后，应将载物台下降，把油镜头转离光轴，用蘸有二甲苯的擦镜纸将镜头上和带有盖片的切片上的香柏油擦去，无盖片的切片，在其上滴一滴二甲苯，用清水冲洗。

4. 显微测微尺的用法

显微测微尺是细胞生物学研究中常用的器材，它分为目镜测微尺和镜台测微尺。目镜测微尺是一个放在目镜像平面上的玻璃圆片，直径 20—21mm，圆片中央刻有一刻度

尺，常被分为 50 格，每格代表的长度随不同物镜的放大倍数和镜筒的长度而不同。镜台测微尺是在一个载片中央封固的尺，长约 1—2mm，常被分为 100 或 200 等分的小格，因此每小格的长度即为 $10\mu\text{m}$ (0.01mm)。在使用显微测微尺时，首先取镜台测微尺，使其刻度向上夹于载物台上，然后用低倍镜调节直至看清镜台测微尺的刻度，其中每一大格为 0.1mm ，每一小格为 0.01mm ，将目镜测微尺刻度向下装在目镜的视野光阑上，小心转动目镜和移动镜台测微尺，使两尺平行，最好零点对齐以利于读数（图 1—3），记录目镜测微尺若干格所对应的镜台测微尺的格数，并按以下公式求出目镜测微尺每格所代表的长度：

$$\text{目镜测微尺每格所代表的长度 } (\mu\text{m}) = \frac{\text{镜台测微尺的若干格数}}{\text{对应目镜测微尺的格数}} \times 10$$

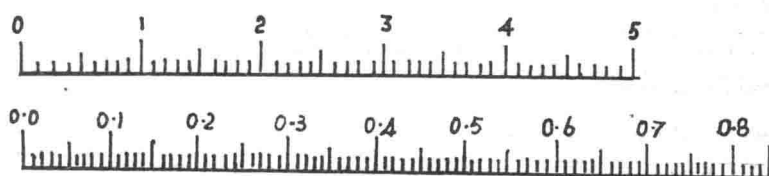


图 1—3 目镜测微尺（上）和物镜测微尺（下）

例如：在低倍镜下所标定的镜台测微尺长度为 0.68mm ，而所对应的目镜测微尺为 50 格，则每小格的长度为： $0.68/50=0.0136\text{mm}=13.6\mu\text{m}$ 。当目镜测微尺每小格的长度计算出来之后，可将镜台测微尺移去，换上标本，然后用目镜的刻度衡量物体的格数，再乘以每格的微米数，即为物体的实际长度。如换用高倍镜测量物体时，需要用同样方法重新计算目镜测微尺每格所代表的绝对长度。值得说明的是：在测量时，应尽量将被测量的物体放在视野中央，因为这个位置物像最清晰，像差也最小，另外为了减少误差，在测量同一被检物体时，最好测量 3—5 次以上，取其平均值。

（三）使用显微镜应注意的事项

1. 搬动显微镜时，必须一手握镜臂，一手托镜座，紧贴胸前，以防目镜、反光镜等零件脱落或与其他物体相撞。
2. 显微镜上的各部件不准随便拆卸或串换，每次使用前后都要仔细检查，发现问题及时向老师汇报。
3. 在转换物镜时，一定要旋转转换器，不可用手直接搬转物镜，以防造成目镜与物镜的光轴不合，影响观察。
4. 要保持显微镜的清洁，不用时应放入镜箱或用绸布遮盖，如在使用过程中有污染，须及时清除：机械部分要用绸布擦拭，而光学及照明部分则用擦镜纸擦拭。
5. 在观察标本时，必须养成用左眼观察而右眼同时睁开的习惯，并注意玻片标本移动方向与视野内物像移动方向是相反的。
6. 显微镜用完后，应将标本取下，并将聚光器下降约 1cm ，同时把物镜转离通光孔，再送回镜箱。

（四）观察蟾蜍血细胞、平滑肌细胞、皮肤细胞和骨骼肌细胞以及猪脊髓神经节细胞

你观察了一些什么细胞？——猪小肠绒毛——中肠腺细胞——5.9

的组织切片，并比较这几种细胞的形态。

四、作业

1. 绘制所观察的蟾蜍血细胞和皮肤细胞图。
2. 分别写出使用低倍镜 $10\times$ 和高倍镜 $40\times$ 时，目镜测微尺每格代表的长度，并测量蟾蜍血细胞的长短径。

五、思考题

1. 怎样区别低倍镜、高倍镜和油镜？
2. 为什么用高倍镜和油镜观察标本时，仍需从低倍镜开始？
3. 怎样调节视野的亮度？
4. 如果视野内不出现物像时，应从哪几方面考虑解决？
5. 使用显微镜时，出现以下问题，如何解决？
 - (1) 视野内出现窗格，灯罩等影像。
 - (2) 物像部分或全部偏离视野中心或视野之外。
 - (3) 视野太亮，需暗些时。
 - (4) 调节物距时，标本物像总是不清晰，似有云雾遮盖。
6. 在显微镜使用完毕送回镜箱时，应注意什么？
7. 用油镜观察完标本之后，应如何处置？
8. 显微测微尺分几种？每种作用如何？
9. 为何在使用显微测微尺时，用不同倍数的物镜头需重新标定目镜测微尺刻度数？
10. 蟾蜍的皮肤细胞和血细胞各呈什么形状？为什么这两种细胞的形状不同？
11. 为什么神经细胞具有突起而平滑肌细胞呈梭形？

(4 学时)

实验二 细胞内化学成分测定

一、实验目的

掌握血液涂片和用细胞化学反应显示细胞内某些化学成分的方法，了解细胞内DNA、RNA、酸性蛋白和碱性蛋白等成分的分布。

二、实验准备

1. 材料：蟾蜍
2. 仪器和器材：光学显微镜、解剖器械、载玻片、染色缸、水浴箱。
3. 试剂：70%乙醇、5%三氯醋酸、0.1%酸性固绿染液、0.1%碱性固绿染液、丙酮、甲基绿-吖啶橙染液。

三、实验原理

细胞的组织化学方法，是在保持细胞结构的基础上，利用某些化学试剂与细胞内的一些物质发生化学反应，从而在细胞局部形成有色沉淀，再通过显微镜对细胞内的化学成分进行定位和定性的方法。

四、实验内容

(一) 细胞内酸性蛋白和碱性蛋白显示。

由于不同的蛋白质分子所带的酸性和碱性基团的数目不同，在PH值不同的溶液中，蛋白质分子所带的净电荷多少也不同。如在生理条件下，整个蛋白质所带负电荷多，则为酸性蛋白质；带正电荷多，则为碱性蛋白质。据此，可将标本经三氯醋酸处理提出核酸后，用不同PH值的固绿染液分别染色，使细胞内的酸性蛋白和碱性蛋白显示出来。

1. 蟾蜍血涂片的制备：取一只经乙醚麻醉的蟾蜍，剪开体腔，找到心脏，剪开心包膜，小心将心脏剪一小口，用一干净载玻片的一端取血，然后将血玻片的血滴向下与另一洁净载玻片接触，并呈 $30^{\circ}\sim 45^{\circ}$ 角向前推进，即可推出一层薄薄的血膜（图2—1、2），推时手法要自然，用力要均匀。按此法，涂片三张，在室温下晾干。

2. 固定：将晾干的二张血涂片浸入70%乙醇溶液中固定5分钟，取出清水冲洗。

3. 三氯醋酸处理：将已固定好的二张血涂片浸入 90°C 的5%三氯醋酸中处理15分钟，清水反复冲洗，以冲去涂片上三氯醋酸的痕迹，避免影响实验结果。

4. 染色：一张片用1%酸性固绿染液（PH 2.0~2.5）染色5—10分钟；一张用0.1%碱性固绿染液（PH 8.0—8.5）染色30—60分钟。取出后分别用清水冲洗晾干，于镜下



图 2—1 血涂片姿势

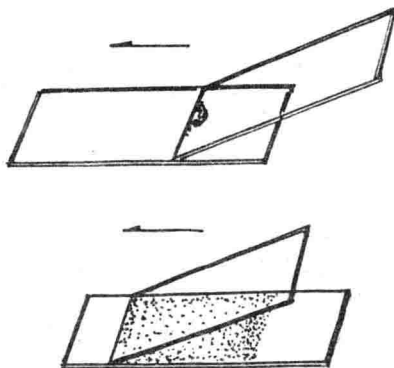


图 2—2 血涂片方法

观察。

5. 结果

(1) 经酸性固绿染液染色的标本，可见细胞质和核仁中的蛋白质被染成绿色，此即为酸性蛋白质在细胞内的分布（图 2—3）。

(2) 经碱性固绿染液染色的标本，可见只有细胞核内染色质被染成绿色，而其他部位无色，此即为碱性蛋白质在细胞内的分布（图 2—4）。

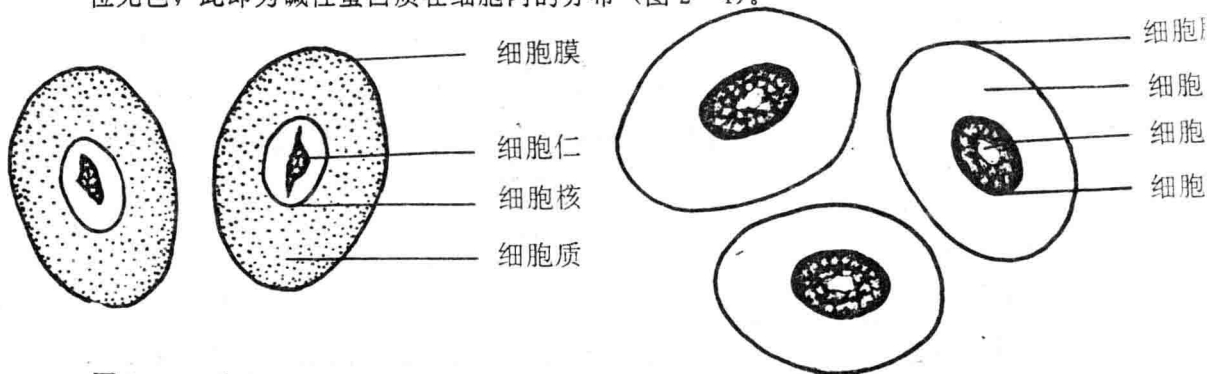


图 2—3 酸性蛋白在蟾蜍红细胞中的分布 图 2—4 碱性蛋白在蟾蜍红细胞中的分布

(二) 细胞内 DNA 和 RNA 的显示

DNA 和 RNA 是细胞中的重要物质，细胞经甲基绿——派罗宁混合液处理后，其中的 DNA 被染成绿色而 RNA 被染成紫红色。根据这种着色特点可以确定细胞中 DNA 和 RNA 的分布。

1. 观察蟾蜍红细胞内 DNA 和 RNA 的分布

(1) 取一张蟾蜍血涂片在 70% 乙醇中固定 5—10 分钟，晾干，将甲基绿——派罗宁混合染液滴在血涂片上染色 20 分钟，然后用蒸馏水冲洗，并用吸水纸吸去多余水分，不宜过干，最后放在丙酮中分色 2—3 秒钟，于镜下观察。

(2) 结果

细胞质被染成浅红色，细胞核染成蓝绿色，其中核仁被染成紫红色（图 2—5）。

2. 观察洋葱根尖细胞的切片标本

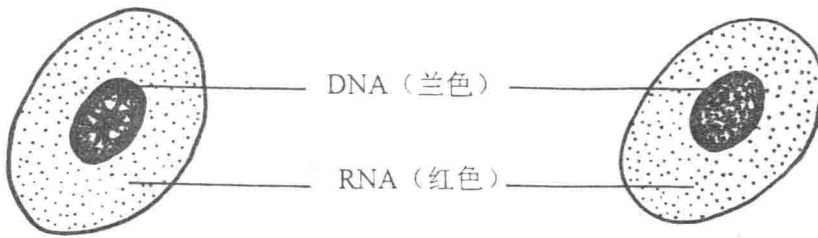


图 2—5 DNA 和 RNA 在蟾蜍红细胞中的分布

五、作业

1. 分别绘制酸性蛋白和碱性蛋白在蟾蜍红细胞中的分布。
2. 绘制 DNA 和 RNA 在蟾蜍红细胞中的分布。
3. 比较蟾蜍红细胞和洋葱根尖细胞内 DNA 和 RNA 的分布异同。

(4 学时)

实验三 观察细胞的生理活动

一、实验目的

了解细胞的某些生理活动，掌握临时装片技术。

二、实验准备

1. 材料：洋葱、小白鼠、家兔红细胞悬液、1%鸡红细胞悬液。
2. 仪器和器材：显微镜、眼科剪子、眼科镊子、载玻片、盖玻片、吸水纸。
3. 试剂：500u/ml 肝素，0.4%、1.2%和4%的氯化钠水溶液，含有台盼蓝的6%淀粉肉汤。

三、实验原理

水分和电解质之所以能透过细胞膜，其因素之一就是细胞内外的渗透压差，水总是由渗透压低处渗透到渗透压高处。例如：当细胞外的溶液浓度高于细胞内时，细胞内的水分就透过细胞膜进入到周围环境，从而导致原生质浓缩，细胞皱缩。但是细胞膜并不是理想的半透膜，当细胞长时间处于高渗溶液中时，外界的溶质也可以进入细胞，使细胞质浓度升高，外界溶液浓度降低，从而水分进入细胞，使细胞恢复原来状态。

白细胞是机体的防御细胞，它分为粒细胞系，单核细胞系和淋巴细胞系。其主要生理功能是：游走、趋化、变形运动和吞噬。由于粒细胞和单核细胞的吞噬活动最强，因此称这两类细胞为吞噬细胞，其中单核吞噬细胞在血液进入组织后，则逐渐演变成巨噬细胞。

四、实验内容

(一) 观察家兔的红细胞渗透现象

家兔是哺乳类动物，其红细胞中的钠离子浓度为0.9%。本实验是观察家兔红细胞在0.9%（等渗）、1.2%（高渗）和0.4%（低渗）氯化钠溶液中的形态变化。具体操作如下：

取一洁净载片，第一次滴一滴家兔红细胞悬液，盖上盖片，先用低倍镜后用高倍镜观察红细胞的形态。第二次先在载片上滴一滴红细胞悬液，然后再加1—2滴1.2%氯化钠水溶液，而第三次更换为0.4%氯化钠的水溶液，盖上盖片，分别在镜下观察红细胞形态，同时比较在三种不同浓度的氯化钠水溶液中红细胞的形态各有什么变化。

(二) 观察植物细胞的质壁分离现象

植物细胞的质壁分离也是一种渗透现象，当细胞失水发生皱缩时，由于细胞壁的伸缩性较小，不能随原生质浓缩而变形，所以在细胞膜与细胞壁之间就出现分离，这就是植物细胞所特有的质壁分离现象。由于细胞膜并不是理想的半透膜，因此当植物细胞长时间处于高渗溶液中时，质壁分离即可复原。具体操作如下：

1. 用镊子取一小块洋葱鳞片内表皮，放在载片上，滴一滴水，盖上盖片，于镜下观察，发现洋葱表皮细胞多呈矩形、四边形或梯形，但此时由于细胞膜紧贴细胞壁因此还分不出两者的界限。

2. 另取一小块洋葱鳞片内表皮，放于载片上，滴1—2滴4%氯化钠水溶液，盖上盖片，在显微镜下观察，可见细胞发生局部皱缩，形成不规则形态，但由于细胞壁仍保持原状，因此在细胞壁和细胞膜皱缩的地方出现了空隙，这就是质壁分离现象。

3. 将上述发生质壁分离现象的载片从显微镜上取下，在盖玻片的一侧滴2滴清水，然后用吸纸在盖片的另一侧将高渗液吸出，同时迅速将载片重新放于载物台上，观察质壁分离现象的复原。

(三) 观察小白鼠腹腔巨噬细胞的吞噬活动

巨噬细胞对外来异物具有较强的吞噬作用。在它吞噬过程中，首先由于趋化作用而向异物游走，然后伸出伪足将异物包围，同时由内吞作用将异物吞入细胞形成吞噬泡，这些吞噬泡再与溶酶体融合，从而将异物消化掉。具体操作如下：

1. 在实验前两天，每天向每只小白鼠腹腔注射6%淀粉肉汤（含台盼蓝）1ml。

2. 实验时再给每只小白鼠腹腔注射1%鸡红细胞悬液1ml。

3. 30分钟后，用颈椎离断法处死小白鼠，剖开腹腔，向其注入1ml生理盐水，并用牙签轻轻搅拌，使生理盐水与腹腔液充分混合，然后用注射器直接抽取腹腔液，滴于载玻片上，盖上盖片，静置片刻后，放在镜下观察。

4. 在高倍镜下，可见有许多较大的圆形和不规则形的巨噬细胞，其细胞质中含有数量不等的蓝色小颗粒，此外，还可见少量呈黄色并带有椭圆形核的鸡红细胞。缓慢移动玻片，仔细观察巨噬细胞吞噬鸡红细胞过程的情况，发现有的红细胞已部分吞入；有的巨噬细胞吞入一个或多个红细胞形成吞噬细胞。

五、作业

1. 简述兔红细胞在三种不同浓度氯化钠溶液中的形态变化及原因。
2. 绘洋葱表皮细胞正常形态及质壁分离图。
3. 绘巨噬细胞吞噬鸡红细胞不同阶段的图。

(2 学时)

实验四 ABO 血型鉴定

一、实验目的

掌握 ABO 血型的原理及鉴定方法，观察红细胞的凝集现象。

二、实验准备

- 1. 材料：人外周血
- 2. 仪器和器材：显微镜、双凹玻片、载玻片、采血针、消毒牙签。
- 3. 试剂：A 型和 B 型标准血清、生理盐水、酒精棉球、碘酒。

三、实验原理

ABO 血型是红细胞的一种血型。它是根据红细胞膜表面所存在的不同种类的特异性抗原来确定的，这种抗原（凝集原）的主要化学成份是糖蛋白和糖脂，常具有遗传性。在人类的 ABO 血型中，红细胞表面常有两种抗原即 A 和 B，而血清当中则含有两种抗体（凝集素） α 和 β ，这些抗原和抗体的固定组合，形成了人类的 ABO 血型，具体情况见表 1。

表 1 ABO 血型的构成

血 型	A	B	AB	O
红细胞表面抗原	A	B	A、B	—
血清内抗体	β	α	—	α 、 β

由于抗原和抗体的存在，因而常常要发生免疫反应，使红细胞凝集、细胞溶解。这种免疫反应一般发生在同种个体之间，因为 α 抗体可与 A 抗原相互作用， β 抗体可与 B 抗原相互作用，而对于同一个体来说，A 抗原与 α 抗体或 B 抗原与 β 抗体不能同时存在，但在个体之间， α 抗体与 A 抗原或 β 抗体与 B 抗原则及有可能相遇，从而导致免疫反应的发生。根据这种免疫反应的结果即可鉴定出人的 ABO 血型，具体鉴定结果见表 2。

表 2 ABO 血型的鉴定

A 型标准血清 (β)	—	+	+	—
B 型标准血清 (α)	+	—	+	—
血 型	A	B	AB	O

四、实验操作

1. 取一洁净双凹玻片，在两凹上方用玻璃铅笔分别标上 A 和 B。

2. 在 A 凹内滴一滴 A 型标准血清，在 B 凹内滴一滴 B 型标准血清，注意两种血清的滴管应严格区分不得混用。

3. 将受检者耳垂或指尖以及采血针的针尖分别用碘酒和酒精棉球消毒，待干后用采血针刺破耳垂或指尖，用载片一端的两角分别采血，然后，将一角的血与 A 型标准血清混合，另一角的血与 B 型标准血清混合，静置 10—15 分钟，注意，两凹中的液体绝对不能互相混合，一旦混合必须重做。

4. 取上述双凹玻片，用肉眼或低倍镜观察，看有无凝集现象出现（参见图 4）。观察时可將玻片振动数次，如果有凝集发生，则越动凝集块越大；如无凝集，则振动后，血球均匀分散。

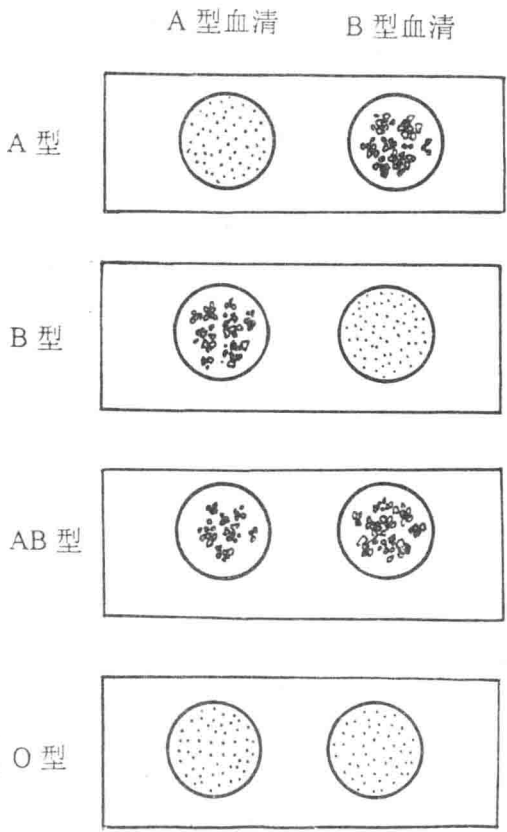


图 4 ABO 血型鉴定图示

5. 为了准确起见，若 15 分钟过后仍无凝集现象，可延长几分钟，以免造成假阴性的错误，因为有时标准血清效价低，或红细胞抗原敏感性低，因此反应时间可能延长。

五、作业

1. 写出自己的实验结果，并判断自己的血型。