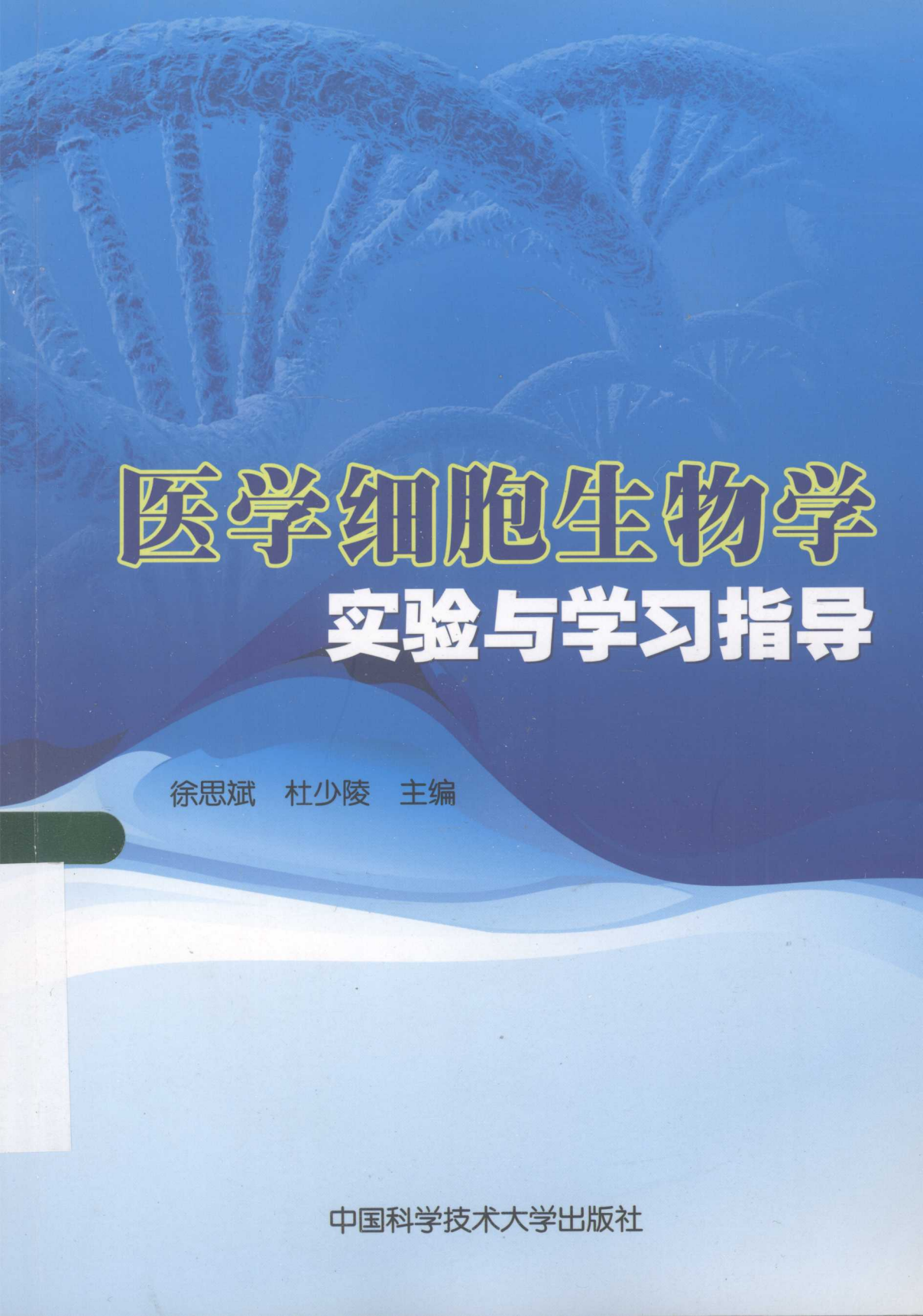




医学细胞生物学

实验与学习指导

徐思斌 杜少陵 主编

中国科学技术大学出版社

11

高继光 黄顺国

C1699059

内 容 简 介

本书包括医学细胞生物学实验指导和医学细胞生物学学习指导及复习思考题两大部分。实验指导部分是在总结作者多年的教学经验基础之上,根据理论与实验教学大纲的要求编写而成的,内容自成体系且紧扣理论教学,既能帮助学生掌握并验证基本理论知识,又能提高其操作技能,可多方面培养和训练学生独立分析和解决问题的能力。学习指导及复习思考题部分旨在突出学习的重点和难点,以提高学习效率。

本书可作为医学及细胞生物学相关专业学生的学习教材,也可作为相关技术工作者的参考资料。

图书在版编目(CIP)数据

医学细胞生物学实验与学习指导/徐思斌,杜少陵主编. —合肥:中国科学技术大学出版社,2013. 8

ISBN 978-7-312-03278-3

I. 医… II. ①徐… ②杜… III. 医学—细胞生物学—实验—医学院校—教学参考资料 IV. R329. 2-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 174128 号

出版 中国科学技术大学出版社

安徽省合肥市金寨路 96 号,230026

<http://press.ustc.edu.cn>

印刷 安徽省瑞隆印务有限公司

发行 中国科学技术大学出版社

经销 全国新华书店

开本 710 mm×960 mm 1/16

印张 10.5

字数 206 千

版次 2013 年 8 月第 1 版

印次 2013 年 8 月第 1 次印刷

定价 20.00 元

前 言

“医学细胞生物学”是一门基础医学课程,熟悉并掌握本课程的基本理论、基本知识和基本技能,可以为其他医学基础课、专业课的学习奠定基础。

本书包括医学细胞生物学实验指导和医学细胞生物学学习指导及复习思考题两大部分。实验指导部分是在总结作者多年的教学经验基础之上,根据理论与实验教学大纲的要求编写而成的,内容自成体系且紧扣理论教学,既能帮助学生掌握并验证基本理论知识,又能提高其操作技能,可多方面培养和训练学生独立分析和解决问题的能力。学习指导及复习思考题部分旨在突出学习的重点和难点,以提高学习效率。

本书实验指导部分的特点为:

- (1) 更新组合实验内容,增加学生动手操作的机会。
- (2) 通过基本技能训练以及观察分析实验结果,使学生了解并掌握有关的实验技术原理和操作方法,进而培养学生动手实践、观察分析和解决问题的能力。
- (3) 附有显微镜下各类标本的照片,更好地指导学生在镜下观察各类标本。
- (4) 作业、思考题及小知识有利于扩大学生的知识面和提高其独立思考的能力。

本书学习指导及复习思考题部分既能帮助学生进行课前预习,使学生在课堂上掌握重点和难点内容,提高听课效率,又能帮助学生课后复习,提高学习效率。

由于编者水平有限,书中难免有错漏和不妥之处,敬请读者批评指正。

编 者

2013年3月

目 录

前言	(i)
医学细胞生物学实验指导	
实验的一般知识	(3)
第一部分 显微镜构造与细胞形态实验	
实验一 普通光学显微镜的结构和使用	(5)
实验二 细胞的基本形态和结构	(11)
实验三 血涂片的制备及显微测量	(16)
第二部分 细胞器与细胞化学实验	
实验四 细胞器的分离与观察	(20)
实验五 线粒体的制备与观察	(24)
实验六 细胞中 DNA、RNA 的染色观察	(27)
实验七 细胞骨架的制备与观察	(30)
实验八 细胞中糖、脂和蛋白的显示	(34)
第三部分 细胞分裂实验	
实验九 细胞的有丝分裂	(38)
实验十 细胞的减数分裂	(43)
第四部分 细胞分子实验	
实验十一 鼠肾基因组 DNA 的制备	(49)
实验十二 DNA 琼脂糖凝胶电泳	(51)
第五部分 细胞培养实验	
实验十三 胎鼠成纤维细胞的原代培养	(54)

实验十四 培养细胞的冻存与复苏	(57)
-----------------------	--------

第六部分 细胞融合与凋亡实验

实验十五 细胞融合	(60)
实验十六 细胞的凋亡	(63)

医学细胞生物学学习指导及复习思考题

第一章 生物学与医学	(69)
第二章 细胞的基本结构与生物大分子	(72)
第三章 细胞膜及其表面结构	(81)
第四章 内膜系统	(92)
第五章 细胞骨架系统	(103)
第六章 核糖体	(108)
第七章 线粒体	(113)
第八章 细胞核	(120)
第九章 细胞增殖周期和生殖细胞发生	(130)
第十章 细胞基因组的结构	(139)
第十一章 细胞基因组的复制与表达	(146)
第十二章 细胞的整体性	(156)
第十三章 生物工程及其医学应用	(158)
参考文献	(162)

实验的一般知识

一、实验的目的和要求

实验的目的是进一步理解和巩固课堂理论知识,掌握必需的基本知识和技能,培养独立操作能力,培养科学的思维方法和实事求是的科学态度,养成遵纪守法、爱护公物、爱劳动、爱整洁、爱环境的良好习惯。

医学细胞生物学

实验指导

要求学生在实验前认真预习实验指导的有关内容,实验时遵守实验操作规程,严格按照教师的安排和实验步骤进行操作,实验作业必须根据自己的操作过程和观察结果认真完成。实验报告应实事求是地记录实验过程、实验结果和实验结论,实验效果和操作作业等均作为实验考核内容。

(1) 每次实验课必须带实验指导、实验作业练习簿、绘图用品等,进入实验室须穿好工作服。

(2) 使用显微镜的实验,应在实验前领取显微镜,使用完后都要检查显微镜,如有损坏,应及时向教师报告。

(3) 实验室内不得大声喧哗,应安静工作。

(4) 实验前由组长从实验准备室领取实验用品,待教师讲解后方可动用。在使用时应注意节约、爱护公物,若有损坏,应及时报告,酌情赔偿。

(5) 示教标本不得随意移动,以免妨碍他人使用。

(6) 实验完毕应将实验台面清理干净,组长负责如数交还。

(7) 实验室内不得吸烟、喝酒、吃零食,不得随意用水、电、窗、门后方可离开。

(8) 遵守实验室规章制度,不得迟到、早退。

三、实验报告的格式和要求

实验报告是对整个实验过程和结果的一个客观、真实的记录。内容一般包括实验的名称、时间、内容、结果和讨论等,同时还可记录一些注意事项、成功经验、失败教训、对某些问题的独特见解,以及一些突发的好主意、好思想等。

不同的实验类型对实验报告的格式要求也是不同的。设计性或研究性实验的实验报告一般按科技论文的撰写格式来写,内容包括:题目、摘要、关键词、前言、材

实验十四 培养细胞的冻存与复苏	(57)
-----------------	------

第六部分 细胞融合与凋亡实验

实验十五 细胞融合	(60)
-----------	------

实验十六 细胞的凋亡	(63)
------------	------

医学细胞生物学学习指导及复习思考题

第一章 生物学与医学	(69)
第二章 细胞的基本结构	(72)
第三章 细胞膜及其表面结构	(81)
第四章 内膜系统	(82)
第五章 细胞骨架系统	(103)
第六章 核膜	(108)
第七章 线粒体	(113)
第八章 细胞核	(120)
第九章 细胞增殖周期和生殖细胞发生	(130)
第十章 细胞基因组的结构	(139)
第十一章 细胞基因组的复制与表达	(146)
第十二章 细胞的整体性	(156)
第十三章 生物工程及其医学应用	(158)
参考文献	(162)

实验的一般知识

一、实验课的目的和要求

实验课的目的是进一步理解和巩固课堂理论知识,掌握必需的基本知识和技能;培养学生独立操作、观察、分析和思考的能力;培养实事求是的科学态度;养成守纪律、爱公物、爱整洁的良好学风。

要求学生在实验前认真预习实验指导的有关内容。实验时遵守实验操作规程,严格按照教师的安排和实验指导的要求进行,实验作业必须根据自己的操作过程和观察结果认真完成。实验纪律、实验态度、操作能力、实验效果和作业等均作为实验成绩的考核内容。

二、实验守则

(1) 每次实验课必须带实验指导、实验作业练习簿、绘图用品等,进入实验室须穿好工作服。

(2) 使用显微镜的实验,应在实验前借取显微镜,使用前后都要检查显微镜,如有损坏,应及时向教师报告。

(3) 实验室内不得喧哗嬉笑,应定位入座。

(4) 实验前由组长从实验准备室领取实验用品,待教师讲解后方可动用。在使用时应注意节约、爱护公物,若有损坏,应及时报告,酌情赔偿。

(5) 示教标本不得任意移动,以免妨碍他人使用。

(6) 实验完毕应将实验用具洗净擦干,由组长负责如数交还。

(7) 每次实验结束,以小组轮流打扫卫生,关好水、电、窗、门后方可离开。

(8) 遵守请假制度,不得迟到、早退或无故缺席。

三、实验报告的格式和要求

实验报告是对整个实验过程和结果的一个客观、真实的记录。内容一般包括实验的名称、时间、内容、结果和讨论等,同时还可记录一些注意事项、成功经验、失败教训、对某些问题的独特见解,以及一些突发的好主意、好思想等。

不同的实验类型对实验报告的格式要求也是不同的。设计性或研究性实验的实验报告一般按科技论文的撰写格式来写,内容包括:题目、摘要、关键词、前言、材

料与方法、结果、讨论、参考文献等。基础性实验或综合性实验的实验报告的书写格式如下:

实验一 实验名称

一、实验目的:写出本次实验要达到的目的。1.; 2.; 3.等。

二、实验原理:说明本次实验的实验原理。有些实验原理简单或不要求掌握的也可不写。

三、实验内容:写出实验步骤及流程。1.; 2.; 3.等。

四、实验结果:运用文字、图形、表格等真实全面展示出实验的结果。内容注意与实验内容区分开。

五、分析与讨论:对实验过程中的现象和结果进行分析和讨论,对一些重要的注意事项进行思考,总结自己的成功经验、失败教训和本次试验的心得体会等。

(徐思斌 杨建课)

和镜筒成直线时,就会发出“咔”的碰响声,此时可调节焦距观察玻片上的标本。载物台,又称载物台,是位于镜臂下方的一块方形平板(有的为圆形),用于承载玻片标本,镜台中央有一圆形的通光孔,光线透过聚光镜由此孔射向标本。

第一部分 显微镜构造与细胞形态实验

实验一 普通光学显微镜的构造和使用

一、实验目的

- (1) 熟悉普通光学显微镜的结构和用途;
- (2) 掌握低倍镜、高倍镜的正确使用方法。

二、实验原理

显微镜是利用凸透镜的放大成像原理,增大近处微小物体对眼睛的张角(视角大的物体在视网膜上成像大),将人眼不能分辨的微小物体放大到人眼能分辨的尺寸。用角放大率 M 来表示它们的放大本领。因同一件物体对眼睛的张角与物体离眼睛的距离有关,所以一般规定像离眼睛距离为 25 cm(明视距离)处的放大率为仪器的放大率。显微镜观察物体时通常视角很小,因此视角之比可用其正切之比来代替。

普通光学显微镜主要由物镜和目镜组成,它们均为凸透镜。物镜的焦距(f_1)短,目镜的焦距(f_2)长。物镜到标本(AB)的距离稍大于物镜(L_o)的焦距,标本经物镜放大后,形成放大倒立的实像 $A'B'$,实像 $A'B'$ 是目镜上的物体,它位于目镜的焦点以内, $A'B'$ 经目镜(L_e)再次放大后,形成放大的虚像 $A''B''$ (图 1.1)。

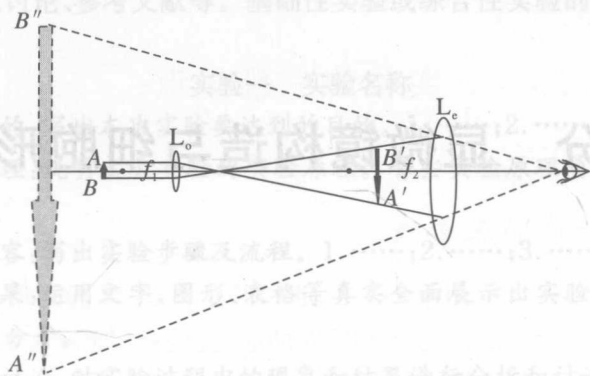


图 1.1 普通光学显微镜成像原理图

三、实验用品

1. 器材
显微镜。
2. 材料
纤维片。

四、实验步骤

(一) 显微镜的构造

光学显微镜简称光镜,其作用是将微细结构适当地放大,以便于观察。它是生物学、医学教学和科研的常用仪器,每个生物学和医学类的学生都必须熟悉它的结构及性能,掌握其正确的操作方法。

普通光学显微镜种类很多,型号各不相同,无论外观上存在着多大差异,其基本结构和功能大致是相同的,一般由机械部分和光学部分组成(图 1.2)。

1. 机械部分

镜座:是显微镜的底座,用以支持和稳定整个显微镜。

镜柱:是垂直于镜座上的短柱,起支持镜臂和镜台的作用。

镜臂:位于镜柱上面的弓形部分,使显微镜便于提取。

镜筒:位于镜臂前方的圆筒,上端装有目镜筒,下端连接物镜转换器,以齿状板与调节器相接,可上下移动,调节焦距。

物镜转换器:位于镜筒下端一个可旋转的圆盘,一般装有 3 个不同放大倍数的接物镜,旋转它可以调换不同放大倍数的接物镜,旋转盘边缘有一固定卡,当旋至物镜

和镜筒成直线时,就会发出“咔”的碰响声,此时可调节焦距观察玻片上的标本。

镜台:又称载物台,是位于镜臂下方的一块方形平板(有的为圆形),用于承放玻片标本,镜台中央有一圆形的通光孔,光线透过聚光镜由此孔射向标本。

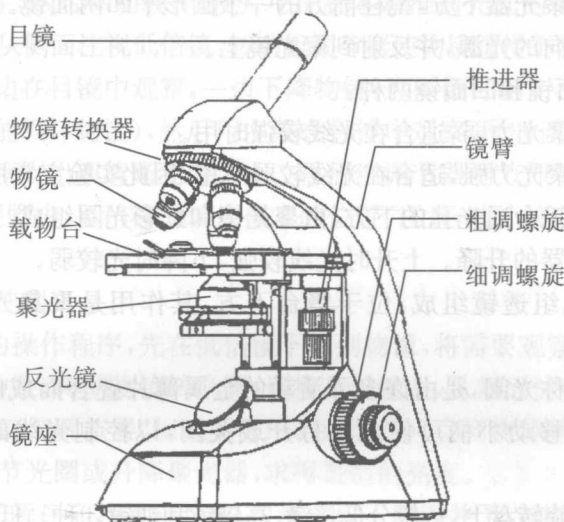


图 1.2 单目显微镜的结构

推进器:位于镜台后方和侧面边缘,下方一侧有两个旋钮,转动它可以调节推进器,使标本做前、后、左、右移动,以便全面观察。有的显微镜无推进器,但装有弹簧夹,标本推进器上有纵横游标尺用以测定标本在视野中的位置,即游标尺副标尺的一致点,如图 1.3 所示。可见副标尺的零点在主标尺的 26~27 之间,副标尺的 2 与主标尺的 30 一致,即 2 与主标尺上的一个分度线正对,此标尺所表示的数值即为 26.2 mm。

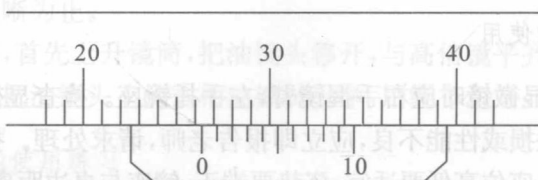


图 1.3 游标尺的用法

调节器:在镜臂上方(有的位于下方)装有一大一小两对齿轮,大的为粗调节器(粗调螺旋),小的为细调节器(细调螺旋);转动它们可使载物台做上下移动,便于调节焦距。转动粗调节器可使镜筒做较大距离或较快速度的升降,通常在低倍镜

找物像时使用。转动细调节器可使镜筒做缓慢的升降,常用它做精细的调节,从而得到清晰的物像。

2. 光学部分

反光镜:位于聚光器下方,镜柱前方的一个圆形平凹两面镜。反光镜可转向各方,以便收集各方向的光源,并反射到聚光镜上。

反光镜分平面镜和凹面镜两种:

(1) 平面镜:聚光力弱,适合在光线较强时用。

(2) 凹面镜:聚光力强,适合在光线较弱时用,因此实验室常用凹面镜。

聚光器:位于镜台通光孔的下方,由聚光镜和虹彩光圈组成。镜柱的一侧装有螺旋,可调节聚光器的升降。上升时光线较强,下降时光较弱。

聚光镜:由几组透镜组成,位于镜台下方,其作用是聚集光线,增强视野的亮度。

虹彩光圈:又称光阑,是由许多可活动的金属薄片叠合而成的圆环状结构,圆环外侧有一小柄,移动小柄可使光圈打开或关闭,以控制光线的强弱,使物像更清晰。

物镜:嵌装在旋转盘上,一般分低倍镜、高倍镜和油镜3种。低倍镜头最短,油镜头最长,高倍镜头介于两者之间。镜头上标有不同放大倍数的符号,一般低倍镜头为 $10\times$,高倍镜头为 $40\times$,油镜头为 $100\times$,数字愈大其代表的放大倍数也就愈大。

目镜:装在镜筒的上端,一般镜箱中配有几种不同放大倍数的目镜,使用时可根据自己的需要,选择合适的目镜装于镜筒。目镜内常装有一根指针,以指示观察玻片标本的某一部分。

3. 显微镜放大倍数的计算

显微镜放大倍数 = 目镜放大倍数 $\times$ 物镜放大倍数

例如,目镜为 $10\times$,物镜为 $40\times$,其放大倍数就为 10×40 ,即400倍。

(二) 显微镜的使用

从镜箱中取出显微镜时应右手握镜臂,左手托镜座。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,应立即报告老师,请求处理。把显微镜放在身前稍左侧的实验桌上,座位高低要适宜,姿势要端正,镜座与桌边距离约10 cm。观察显微镜标本时要学会两手同用(一手转动调节器,一手转动推进器),两眼齐睁,左眼观察目镜标本。

1. 低倍镜的使用

先转动粗调节器,使镜筒上升或载物台下降,再转动物镜转换器,使低倍镜头对准镜台圆孔即通光孔,当听到轻微的碰响声时,说明目镜和物镜已成一条直线。

对光:打开光圈,旋转聚光器的升降螺旋,使聚光器升到与镜台平齐,用左眼观察目镜,同时用反光镜的凹面对向光源,直到视野内光线明亮均匀为止。

置片:取被观察的玻片标本置于载物台上,注意正面朝上。玻片两端用标本推进器或弹簧夹夹住,然后移动玻片,使片中的标本对准通光孔的正中央。

调节焦距:先从侧面注视低倍镜,转动粗调节器使物镜缓慢下降至距标本0.5 cm左右(切记不可一边在目镜中观察,一边下降物镜,这样做可能在不知不觉中使物镜压碎标本,甚至可能损坏物镜),然后用左眼在目镜中观察,同时调节粗调节器,使物镜慢慢上升,直至视野出现清晰物像为止。再用细调节器调节即可得到最清晰的物像。如物像不在视野内,可稍移动玻片标本的位置(注意:玻片移动方向与物像移动方向正好相反)。

2. 高倍镜的使用

按上述同样的操作程序,先在低倍镜下找到物像,将需要观察的标本或标本的一部分移至视野中央,转动物镜转换器,调换高倍镜头,从侧面注视物镜,使高倍镜头对准通光孔,转动细调节器(切记不可用粗调节器),直到物像清晰为止。若光线太强或太弱,可调节光圈或升降聚光器,求得最适的亮度。

如按上述操作程序还找不到物像,可考虑以下原因并予以纠正:

(1) 观察的标本不在视野内,可调换低倍镜重新将标本移到视野中央。

(2) 标本放反。应将盖玻片或标签的一面向上可找到物像。

(3) 标本褪色。应调节聚光器或光圈,以减少光的亮度。

在更换玻片标本时应先转开高倍镜取出玻片标本,然后再放置其他的标本。

3. 油镜的使用

先在低倍镜下找到清晰物像,再转换高倍镜观察,并使观察到的物像位于视野中央,转动物镜转换器,使高倍镜移向一侧,在光孔所对的标本处上方中央滴一滴香柏油,眼睛注视侧面,使油镜头与香柏油接触,左眼观察时微微调节细调节器,直到视野中的物像清晰为止。

油镜使用完毕,首先上升镜筒,把油镜头移开,与高倍镜平齐呈“八”字形,用擦镜纸沾少许二甲苯把油镜头上的香柏油擦拭干净,用绸布包好,送回镜箱。

(三) 显微镜的使用练习

取一张纤维交叉片,先用低倍镜观察,将玻片标本前、后、左、右慢慢移动找到交叉点,然后移至视野中央,转换至高倍镜观察,判断红绿纤维的上下位置。

五、注意事项

(1) 保持显微镜清洁,不用时及时用塑料罩罩好,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,可沾少许二甲苯擦拭。

(2) 取送显微镜时,不可单手斜提,前后摆动,以防部件滑脱着地损坏。

(3) 不可随意取出目镜,以免灰尘落入镜筒,更不能拆卸任何部位的零件。

(4) 下降镜筒时,不宜用力过猛,速度过快,以免压碎玻片标本,碰碎镜头。

(5) 使用油镜时,必须先在玻片标本上滴香柏油才能进行观察,显微镜不宜倾斜,以防香柏油流出,用毕后应立即将油擦净。

(6) 临时制片时,应注意将载玻片上、下多余水分用电吹风吹干,再放置镜台上。

(7) 显微镜使用完毕,应取出玻片标本,并将接物镜转成“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。

六、实验作业

填写普通光学显微镜各部件的结构名称。

七、思考题

(1) 怎样区别低倍镜、高倍镜和油镜?

(2) 为什么在使用高倍镜、油镜时,仍要从低倍镜开始调节?

(3) 当视野中出现窗框或窗外景物时怎么办?

(4) 经过哪些步骤才能在低倍镜下找到物像?

(林爱琴 官 磊)

1. 低倍镜的使用

先转动粗调节器,使镜筒上升或载物台下降,再转动物镜转换器,使低倍镜对准通光孔,转动目镜,使视野明亮。

实验二 细胞的基本形态和结构

一、实验目的

- (1) 掌握细胞的基本形态和结构；
- (2) 掌握普通光学显微镜的使用方法；
- (3) 掌握生物绘图的基本方法。

二、实验原理

细胞是生命活动的基本结构和功能单位。构成人及其他生物的细胞在形态上是多种多样的,有球形、梭形、椭圆形、立方形、圆柱形、扁平形、星形等。在漫长的进化过程中,细胞的形态和其所行使的功能是相适应的。如长梭形的肌细胞具有收缩的功能;星形的神经细胞具有传递神经信号的作用;带有长长尾巴的精子具有游动功能;扁圆形的红细胞,携带着氧气或二氧化碳能在血管中任意游走。

虽然各类细胞的形态各异,但它们都具有共同的基本结构。在光学显微镜下,动物细胞的基本结构可分为:细胞膜、细胞质、细胞核 3 个部分;细胞内有一些重要的细胞器,如线粒体、高尔基体、内质网、中心体、核糖体、溶酶体等。植物细胞在细胞膜的外侧还有一层细胞壁,细胞内还有叶绿体和大的液泡。

一般细胞的体积较小,且大多是无色透明的,肉眼很难看见,须借助显微镜才能看到,如果想看清其结构,还要事先对其进行染色处理。通常我们把在光学显微镜下看到的结构称为细胞的显微结构,在电子显微镜下看的结构称为细胞的亚微结构或超微结构。

三、实验用品

1. 器材

普通光学显微镜、擦镜纸、铅笔、小刀。

2. 材料

人血涂片(HE 染色)、蛙血涂片(HE 染色)、猫脊神经节切片(HE 染色)、鼠小肠上皮横切片(HE 染色)。

图 2.4 鼠小肠上皮横切片(10×40-HE 染色)