

# 生物学与遗传学实验指导

郭化山 吴来春 著

江西科学技术出版社

## 图书在版编目(CIP)数据

生物学与遗传学实验指导/郭化山,吴来春主编. —南昌:江西科学技术出版社, 2011. 6

ISBN 978 - 7 - 5390 - 4380 - 7

I. ①生… II. ①郭…②吴… III. ①人体细胞学:细胞生物学—实验—高等学校—教学参考资料②医学遗传学—实验—高等学校—教学参考资料  
IV. ①R329.2 - 33②R394 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 098410 号

国际互联网(Internet)地址:

<http://www.jxkjcs.com>

选题序号:ZK2011064

图书代码:X11044 - 101

生物学与遗传学实验指导

郭化山 吴来春 主编

---

出版	江西科学技术出版社
发行	
社址	南昌市蓼洲街2号附1号
	邮编:330009 电话:(0791)6623491 6639342(传真)
印刷	江西省人民政府印刷厂
经销	各地新华书店
开本	787mm × 1092mm 1/16
字数	80千字
印张	3.25
版次	2011年6月第1版 2011年6月第1次印刷
书号	ISBN 978 - 7 - 5390 - 4380 - 7
定价	8.00元

---

赣版权登字 - 03 - 2011 - 173

版权所有,侵权必究

(赣科版图书凡属印装错误,可向承印厂调换)

# 前 言

---

医学生物学与遗传学实验技术是医学院校学生必须掌握的重要的基本技能之一。医学生物学与遗传学实验课程的开设,对学生独立工作、分析问题和解决问题的能力起着重要的作用。通过实验过程的学习和训练,使学生逐步形成严谨的科学态度、正确的思维方法和良好的学习习惯,并逐渐提高学生的动手能力,加深对医学基础理论的进一步理解。

在教学改革不断深化的新形势下,按照新的教学大纲,并根据我们多年来的教学经验,并参考多家兄弟医学院校的实验教学资料,我们编写了这本实验教学指导书,以供各医学专业的学生使用,同时也可供其他生命科学专业的学生参考。

由于时间仓促,加上我们的水平有限,错误和疏忽之处在所难免,望广大老师、同行及同学们及时给予指出,以便我们改正。

编 者

2011年3月

## 实 验 规 则

生物学实验的目的是对课堂所学的理论知识的验证、巩固和提高,并充实和补充一些在课堂教学中没有学到的内容。同时,实验课可训练基本技能,培养技术操作的能力和实事求是的科学态度。为此,学生在实验课中必须具有严肃、认真、独立思考的态度和遵守秩序,互相关心,爱护公物,保持清洁整齐的良好习惯。为了保证实验课的学习效果,订出下列规则,希望大家遵守执行。

一、实验课前必须对实验指导和教材中有关实验内容进行复习和预习,要求对本实验的目的、内容和主要操作规程有大概的了解。

二、在倾听指导老师讲解后再进行实验,切勿任意移动示教或陈列标本,以保证实验室的秩序并避免损坏公物。

三、进行实验时,应保持严肃、安静,不得彼此谈笑,喧哗或随意走动,凡以排定的座次,配备的显微镜、实验材料,标本和用具等,均不得随意调换或携出。

四、实验过程中,要按实验指导的要求认真操作,并详细观察,做好实验报告。如实验记录、绘图、问答及其他指定的作业。

五、要爱护国家财产,厉行节约,珍惜各种仪器设备、标本、药品和材料。如有损坏应立即向指导老师报告,必要时按章处理。

六、实验完毕后,应将实验用具洗净揩干,放回原处,保持实验室整洁。实验结束后,应打扫清洁,并检查自来水龙头,电灯开关以及门窗是否关好,然后离去。

七、遵守请假制度,不得无故缺课,迟到和早退。

## 目 录

## 实验一

显微镜的结构和使用

1

## 实验二

细胞的有丝分裂

5

## 实验三

减数分裂

8

## 实验四

人类外周血淋巴细胞培养  
及染色体标本制备

11

## 实验五

人类染色体 G 显带核型分析

14

## 实验六

人类基因的扩增与检测

18

## 实验七

X 染色体的标本制备

21

## 实验八

人类皮肤纹理的分析

24

实验九

遗传病的系谱绘制与分析 28

实验十

人类遗传病(录像) 30

附录一

常用器材的清洗、包装和消毒 31

附录二

培养液和常用试剂的配制 33

附录三

其他几种显微镜简介 37

附录四

绘图方法和注意事项 38

附录五

石蜡切片、染色标本制作法 39

附录六

临床细胞遗传学实验室基本器材  
和药品 41

附录七

几种溶液的配制 42

附录八

染色体核型图 43

## [实验目的]

1. 初步掌握一般光学显微镜的结构及其功能;
2. 熟悉低倍镜和高倍镜使用方法,初步了解油镜的使用方法;
3. 熟悉显微镜的保护方法。

## [材料和用具]

- ①光学显微镜;②标本片;③擦镜纸。

## [内容]

## (一) 显微镜的结构和主要部分的功能

## 机 械 部 分

1. 镜座: 位于镜的最下面,是显微镜的基座,通常为马蹄形,用于稳定显微镜镜体。
2. 镜柱: 镜座上面的直立部分,它的上端借一关节(即倾斜关节)和镜臂相连,此关节,可以使显微镜成 $90^\circ$ 以内的任何角度,以便观察。镜柱有支持镜臂和载物台的功能。
3. 镜臂: 一般为弯弧形,有支持镜筒和载物台的作用,拿取显微镜时用手握住镜臂。
4. 镜筒: 位于镜臂的前上方,有齿板与调节器相连,借此上升或下降。镜筒的长度一般是160毫米,它的上端装有接目镜,下端有旋转盘。安装接目镜的镜筒有单筒和双筒两种。单筒又有直立式和倾斜式两种;双筒一般都是倾斜式的。
5. 调节器: 镜筒的两旁有两对旋钮,一对大的和一对小的。旋转调节器,可使镜筒上下移动。
  - (1) 大调节器: 旋转一周,能使镜筒移动10毫米长的距离。用显微镜时,先用大调节器校准焦点。
  - (2) 小调节器: 旋转一周,使镜筒移动0.1毫米,使用高倍镜时,要常常移动,以便观察不同层次的结构。
6. 物镜旋转盘: 是一个凹形的圆盘,装在镜筒的下端,下面有2~3个接物镜孔可以安装放大倍数不同的物镜。旋转物镜旋转盘时即可更换物镜。
7. 载物台: 位于镜壁前方,为一方形或圆形的平台,是玻片标本安装处。台中央有一个通光孔(载物台孔),两侧有一对压夹,以固定玻片。有的显微镜装有标本推动器,既可固定玻片又可转动它的螺旋,使玻片前后或左右移动。

## 光学部分

1. 接目镜: 装在镜筒的上端, 一般每台显微镜有 3~5 个放大倍数不同的目镜, 上面刻有 5X, 7X, 10X, 12X, 或 15X 等符号, 表示其放大率; 可以根据需要更换使用。

2. 接物镜: 装在旋转盘上, 有低倍镜、高倍镜和油浸镜 3 种。低倍镜一般有 8X, 10X, 20X, 高倍镜一般有 40X, 45X, 50X, 油镜一般有 90X, 95X, 100X。有些显微镜的物镜上还刻有镜口率, 如 0.3、0.5、1.25 等符号。这些符号的数字越大, 其放大率越高。各物镜的长短不同, 一般是越短的放大率越低, 越长的放大率越高。油镜末端还常有一个黑色或红色的圈, 便于识别。显微镜放大倍数的计算方法是:

显微镜的放大倍数 = 镜筒长度 ÷ 物镜焦距 × 目镜放大倍数。

例如:  $160 \div 16 \times 10 = 100$  倍

一般是接目镜放大率 × 接物镜放大率 = 放大倍数。

例如: 所有的目镜是 10X, 接物镜是 40X, 放大倍数为 400 倍。

3. 集光器和光圈: 位于载物台的下方, 由一块或数块透镜组成, 其作用是把反光镜射来的光线聚集, 并通过光孔照射到载物台上的标本。集光器的一侧有旋钮, 可以上下调整光的强弱, 集光器的下方有光圈(光栏), 由十余个金属薄片组成, 其外侧有一光栏小柄, 左右移动小柄可以开大或关小光圈。根据需要调节光量。当光线过强时, 应当缩小光圈, 光线弱时, 将光圈打开。

4. 反光镜: 位于集光器的下方, 安装在镜柱的前方可以向各个方向转动。使从各个方向来的光线反射入集光器。反射镜有两面, 一面是平面镜, 一面是凹面镜。凹面镜有集光作用, 平面镜只有反射作用, 必须配合使用集光器。在使用平面镜时, 有时会在视野内出现框或窗外景物, 可将集光器下降以消除物象的干扰。

显微镜的照明可以利用天然光源和人工光。

### (二) 显微镜的使用方法

#### 低倍镜的使用方法

1. 安放显微镜: 打开镜箱, 右手握住镜臂, 把显微镜从镜箱中取出后, 再用左手托住镜座, 把显微镜拿到实验台上, 镜臂向胸前, 显微镜略偏左方。

2. 对光: 先旋转粗调节器, 将镜筒略升高, 转动旋转盘, 把低倍镜转到镜筒正下方和镜筒在一直线上(旋转盘与固定卡相碰发出轻微的振动声即可), 用左眼对准接目镜, 用手拨动反光镜, 使镜面转向光源, 看到视野完全发亮时, 就是光线已经通到镜里面。

3. 安放玻片: 先用肉眼仔细看好标本的位置, 正反面和标签, 然后, 将玻片平放于载物台上, 使要观察的标本部分正对通光孔之中央, 并用压夹或标本推动器将玻片固定。

4. 使用调节器: 先从侧面注视接物镜, 同时转动粗调节器, 使镜筒徐徐下降至物镜镜头距离玻片的 0.5 厘米为止。然后用左眼从目镜观察, 慢慢转动粗调节器使镜筒徐徐上升; 直到出现筒象。如果物象不清晰, 再用细调节器轻轻上下调, 使物象清晰为止。

#### 高倍镜的使用方法

高倍镜的使用必须在调好低倍镜的基础上进行。

1. 从低倍镜找到物象后,将其中要用高倍镜观察的部分移到视野中央。
2. 从侧面注视。转换高倍镜至镜筒正下方并靠近标本玻片。

用左眼向接目镜内观察,调节细调节器微微上升或下降,直至物象清晰为止(注意:使用高倍镜时,不能旋转粗调节器,以免镜筒下降幅度太大而损坏镜头)。

### 油浸镜的使用方法

油浸镜的使用必须在调好高倍镜的基础上进行。

1. 将所用油镜观察的部位,在高倍镜下移动到视野中央看到物象后,把高倍镜转到一边,再在玻片标本上滴一点显微镜油(洋杉或香柏油)。

2. 从侧面注视,将油镜头转到镜筒正下方,使镜头与油接触,完全打开光圈,从目镜观察,转动细调节器,使镜筒徐徐上升或下降,直到视野中可以看见清晰物象为止(注意:切记不要随便使用大调节器)。

3. 用过油镜后,用粗调节器将镜筒上升,用擦镜纸蘸二甲苯少许,把镜头和玻片上的油轻轻擦干净。无盖片的标本(血涂片)不能擦,只能用擦镜纸平铺在玻片上,上面加二甲苯一两滴,然后轻轻拖过几次即可,再把标本取下。临时制片因有水分,不能使用油镜。

### (三) 显微镜的保护及保养方法

1. 取用显微镜时必须用一手握镜臂,一手托镜座,紧贴胸前,切勿单手提取,以免零件坠落或与它物碰撞。

2. 光学部分如有不洁,可用擦镜纸揩拭,切不可用手指、手帕、硬布或纸张揩拭,以免损坏镜面。

3. 临时制片,由于含有水分,易于流动,镜台必须平放,不可倾斜亦不可使用油镜。

4. 不要随便取下接目镜,以免灰尘落到镜内。

5. 不要使有腐蚀性的化学药品接触到镜头上,如果接触到镜头上,应立即用擦镜纸擦干净。

6. 用完显微镜后,首先将镜筒升高,转动旋转盘,使每个物镜不对着通光孔,再略降低镜筒,放平镜台,将反光镜面与镜柱平行,放回镜箱。

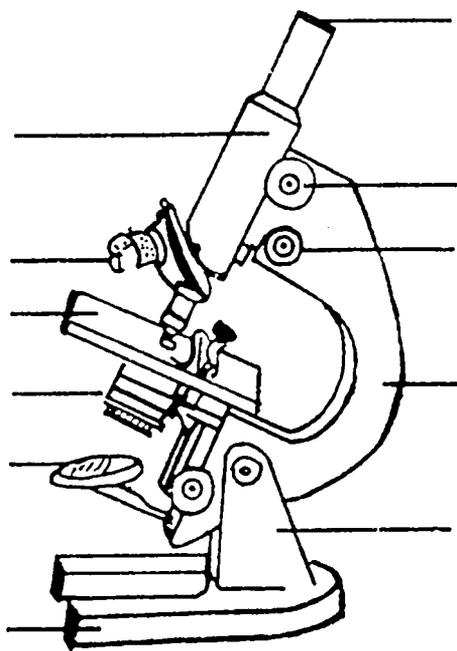
## 实验一 显微镜的结构和使用实验报告

### [实验报告要求]

1. 填写显微镜各部分结构名称;
2. 按照操作规程写出实验体会。

### [实验报告]

1. 填写显微镜各部分名称。



2. 谈谈用好显微镜的体会。

## 实验二

## 细胞的有丝分裂

### [实验目的]

1. 了解细胞有丝分裂的基本过程,动、植物细胞有丝分裂的异同。
2. 熟悉并掌握动、植物细胞有丝分裂的各时期的形态特征。

### [材料和用具]

①洋葱根尖有丝分裂标本片;②马蛔虫卵细胞有丝分裂标本片;③显微镜;④擦镜纸。

### [内容]

#### (一) 洋葱根尖细胞的有丝分裂(M期)(见图2-1)

方法:首先在低倍镜下找到洋葱根尖的生长区,然后再换上高倍镜仔细观察细胞分裂的各时期生长区的特点:①细胞形状一般呈四边形或六角形;②细胞排列紧密,染色较深;③各时期分裂相典型。

1. 前期:细胞核膨大,出现染色丝,形成染色体;核仁核膜消失,染色体分散在细胞中。

2. 中期:染色体排列在细胞中央平面上形成赤道板,在赤道板两侧出现纺锤丝,形成纺锤体。

3. 后期:染色体分为两组并各自向两极移动,最后到达两极。

4. 末期:移到两极的染色体逐渐解体,两个子细胞的核仁、核膜重新形成。与此同时,在细胞中部相当于中期赤道板的位置形成细胞板,把细胞分隔成两部分,最后形成两个子细胞。

#### (二) 马蛔虫卵细胞的有丝分裂(见图2-2)

1. 前期:细胞核膨大,两中心粒细胞各自向两极移动(这是动物细胞有丝分裂的特点之一),染色体出现,核仁、核膜消失。

2. 中期:染色体排在细胞中央,形成赤道板,两中心粒细胞移到两极后,星丝形成纺锤体。

3. 后期:纵裂后的两组染色体,各自分离,组成数目相等的两群子染色体,各向两极移动。

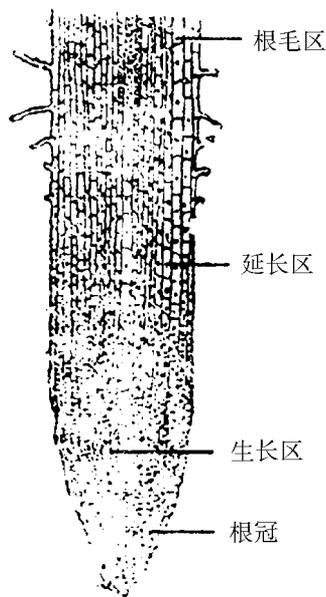


图2-1 洋葱根类图

4. 末期: 移动两极的染色体, 逐渐解体, 两个子细胞的核仁核膜形成, 纺锤丝消失, 同时, 在细胞的赤道部位, 以收缩的方式即细胞膜内陷(这是动物有丝分裂的又一特点), 将细胞分裂为两个子细胞。

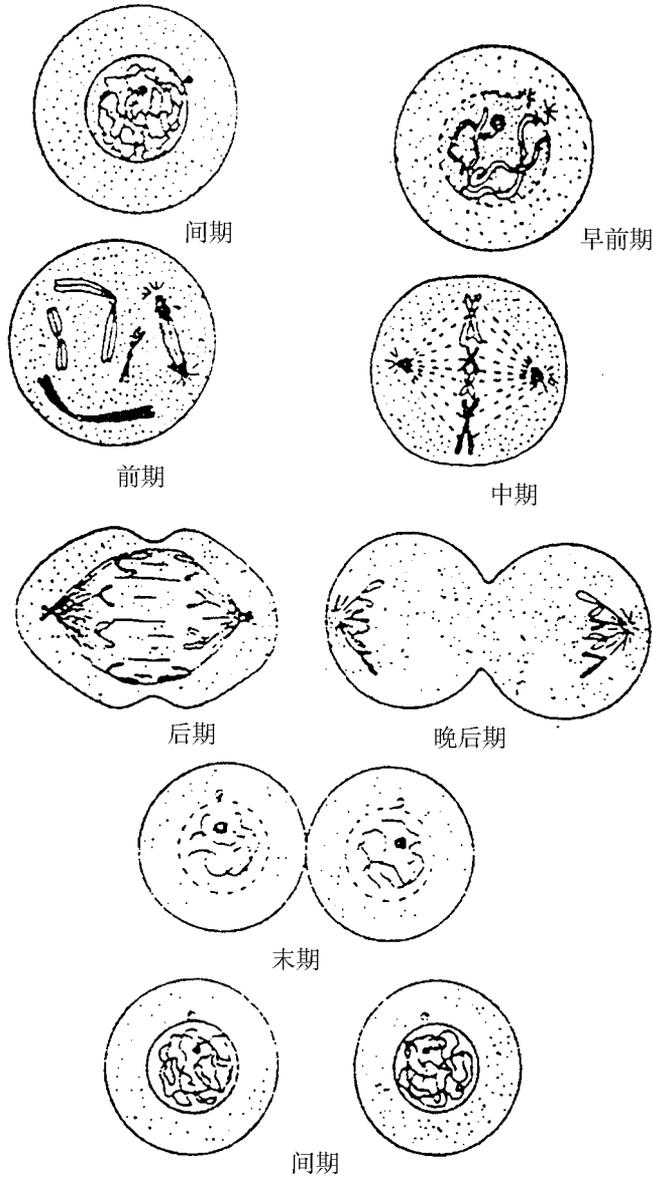


图 2-2 马蛔虫卵细胞分裂示意图

## 实验二 细胞的有丝分裂实验报告

[实验报告要求]

要求将显微镜里看到的分裂各期的细胞图像画下来。

## [实验目的]

1. 学会动物细胞减数分裂的标本制作。
2. 熟悉动物细胞减数分裂过程染色体的形态特征。

## [实验原理]

动物睾丸中有大量的初级精母细胞,经培养进入减数分裂过程,通过连续二次减数分裂,最后形成单倍体的精细胞或精子:

精原细胞→初级精母细胞→次级精母细胞→精细胞→精子。

本实验采用小鼠睾丸组织细胞,经体外培养,可获得较多减数分裂过程中的细胞标本,以便于观察和分析。

## [实验用品]

①细胞培养液(1640或199营养液);②小牛血清;③秋水仙素;④0.075mol/LKCL溶液;⑤细胞固定液;⑥显微镜;⑦恒温箱;⑧离心机;⑨酒精灯等。

## [实验方法]

1. 在无菌条件下取小鼠睾丸组织一小块,加入Hanks液3ml制成组织匀浆。
2. 在无菌条件下吸取0.5ml睾丸组织匀浆的上层细胞悬液,加入到准备好的细胞培养液中,37℃条件下培养24小时。

3. 终止培养前加入秋水仙素(终浓度为0.2ug/ml)2~3滴。

4. 收获细胞,0.075mol/L的KCL低渗处理。

5. 离心(1200r)10分钟,取沉淀,用甲醇:冰醋酸(3:1)固定30分钟。

6. 再离心,弃去清液,制成0.5ml的细胞悬液,滴片,干燥,镜检。

镜下可分辨出减数分裂各期的不同形态的染色体:

前期I:

(1) 细线期:染色体呈细线状,缠绕成团,可看到核仁。

(2) 偶线期:同源染色体配对,即联会,镜下可见到染色体变粗,呈双条。

(3) 粗线期:染色体变粗变短,形成四分体,此时同源染色体开始分开,且有交叉现象发生。

(4) 双线期:同源染色体分开,明显可见交叉现象。

(5) 终变期:染色体变得更粗短,同源染色体相互分离,可见到VYX等形状的染色体。

中期 I：染色体位于细胞中央，核膜消失。

后期 I：同源染色体相互分离。

末期 I：染色体移到两极，一个初级精母细胞分别形成 2 个次级精母细胞，染色体数目减少一半。

前期 II：此期短，每条染色体均为二分体。

中期 II：染色体均排列在赤道板上。

后期 II：姐妹染色体单体分离，分别向两极泳动。

末期 II：移动到两极的染色单体分别形成两个细胞核，最后次级精母细胞分裂成两个精细胞。

### 实验三 减数分裂实验报告

1. 画出显微镜下观察到的减数分裂各期的图像。

2. 谈谈秋水仙素处理,低渗处理等细胞培养技术的原理。

## 实验四

# 人类外周血淋巴细胞培养及染色体标本制备

### [实验目的]

1. 初步掌握人体外周血淋巴细胞培养的基本方法。
2. 初步掌握人体外周血淋巴细胞染色体标本制备方法。
3. 能在显微镜下计算染色体数目。

### [实验原理]

人体外周血淋巴细胞培养及其染色体标本制备是研究染色体最常用的方法,已广泛应用于基础医学,临床医学的研究和染色体病的诊断。

人体外周血中的淋巴细胞可在植物血凝素( PHA) 的刺激下进入有丝分裂,在 PHA 的作用下体外培养 68 ~ 72 小时,使细胞分裂相增多。为了获得大量可供分析的中期染色体,需在终止细胞培养前 4 ~ 6 小时加入适当浓度的有丝分裂阻断剂——秋水仙素,使细胞分裂停滞于细胞分裂中期,可获得大量可供分析的中期分裂细胞。因中期染色体形态最为典型、清晰最易辨认,是研究分析染色体的最好阶段。

在进行染色体标本制备过程中,首先要进行低渗处理,使细胞体积变大,染色体松散开,而便于观察分析最常用的低渗液为 0.075mol/L 的 KCL,低渗后的细胞需用固定液固定;常用 3:1 的甲醇、冰醋酸固定液能起固定染色体的作用。

### [实验装备]

#### 1. 试剂

RPMI - 1640 营养液、小牛血清、植物血凝素( PHA) 双抗( 青霉素、链霉素)、秋水仙素、0.075mol/LKCL 低渗液、甲醇、冰醋酸、Giemsa 染液、肝素。

#### 2. 器材

培养瓶及瓶塞、10ml 移液管、直头小吸管、刻度离心管、超净工作台、隔水式恒温培养箱、离心机、显微镜、冰箱、4℃ 预冷载玻片、酒精灯等。

### [实验材料]

人体静脉血。

### [实验步骤及方法]

#### 1. 分装培养液

在超净工作台内把培养液及其药物在无菌条件下分别装入培养瓶内,每瓶: