

# 回顾

1. 显微镜的“专业”操作。
2. 标准的生物科研绘图。
3. 暗视野下神奇的世界。
4. 实验设计：单盲、双盲、阳性对照、阴性对照。
5. 实验数据处理理念：组内重复，组间差异和组内差异。



# 你的泪，能不能轻易流下来？



- 泪膜破碎时间（BUT）：

- 在被检者结膜囊内滴一滴（1-2 $\mu$ l）1% 荧光素钠，轻轻眨眼数次，自然睁眼平视前方。
- 应用泪膜镜直接观察泪膜，出现蓝色的裂隙的时间，  
**>10s 为正常，<10s 为泪液膜不稳定，<5s 即为异常。**



BUT=0.7S



BUT=2S



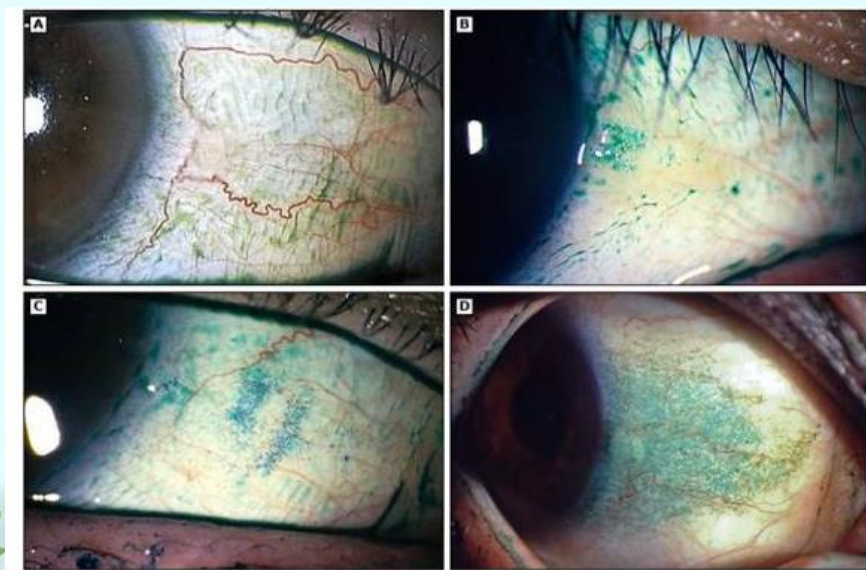
BUT=7.2S



BUT=10S

# 眼表活体染色

- **角膜荧光素染色**：荧光素染色阳性反映角膜上皮的缺损（不连续），如出现点状、丝状染色或呈溃疡状表明**角膜有损伤**。



# 实验三 液泡及线粒体的超 活染色与观察



# 预习问题

- 活体染色，超活染色概念及原理.
- 谈谈你了解的线粒体和液泡系.
- 线粒体和液泡系可以用什么染料进行超活染色？
- 为什么可以特异性的对线粒体或者液泡染色？



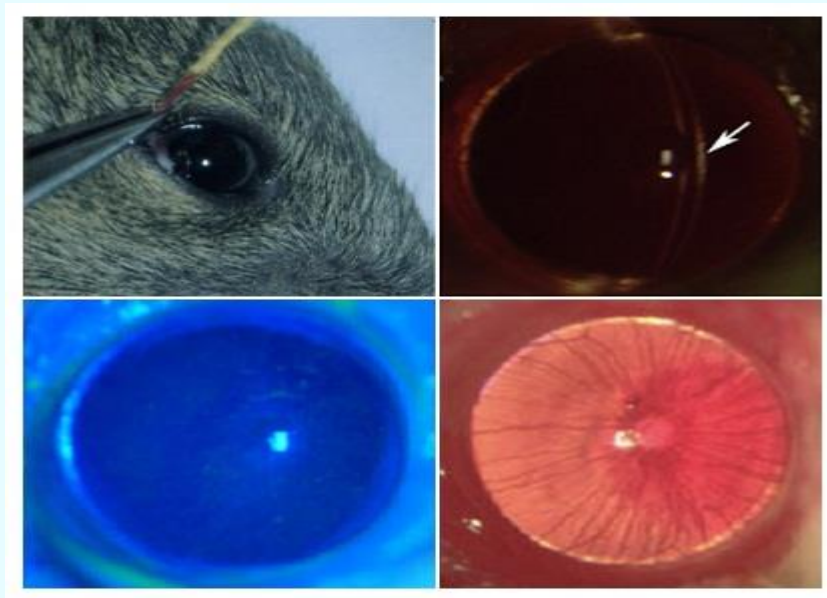
# 一、实验目的

- (1) 掌握细胞器超活染色的原理及应用领域。
- (2) 利用詹纳斯绿B染色，观察线粒体的基本形态与分布。
- (3) 利用中性红染色，观察植物液泡的形态与分布。

## 二、实验原理

### 1. 活体染色

- ◇ 对生活有机体的细胞或组织某些结构着色，不影响细胞的生命活动和产生任何物理化学变化的一种染色方法。
- ◇ **真实：** 观察生活状态下的细胞形态结构和生理病理状态。





● 体内活染与体外活染（超活染色）

● 活体染料：能进入活细胞，多为碱性染料。

● 中性红：细胞的液泡系染色；

詹纳斯绿B和亮焦油紫：线粒体

次甲基蓝：神经组织

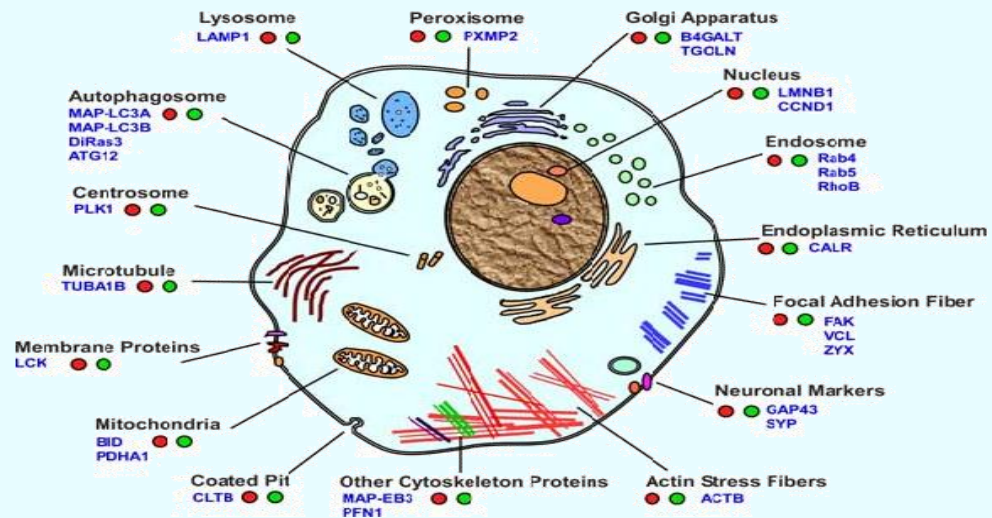
尼罗蓝可染原生动物的大核。



虎红：结膜失活的细胞及变性细胞染色



## 2. 描述一下你了解的线粒体



## 实验对象

## 被利用的生物学特点

## 预测的观察结果

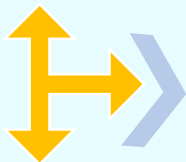


线粒体

功能：呼吸作用，丰富的  
细胞色素氧化酶系统；

形状：杆状  
、橄榄球状  
等

数量：多个，与  
代谢程度有关

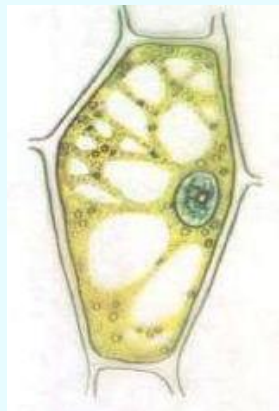


詹纳斯绿 B

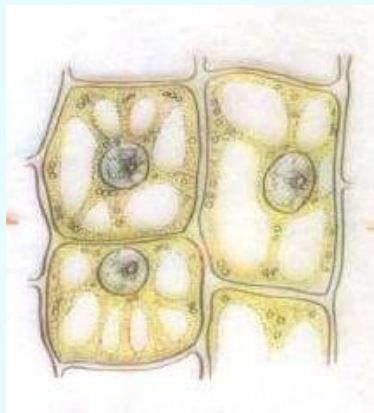
特点：氧化状态呈现蓝绿色  
非氧化态为基色即无色

线粒体中的詹纳斯绿B呈现蓝绿色  
，并非线粒体被染色

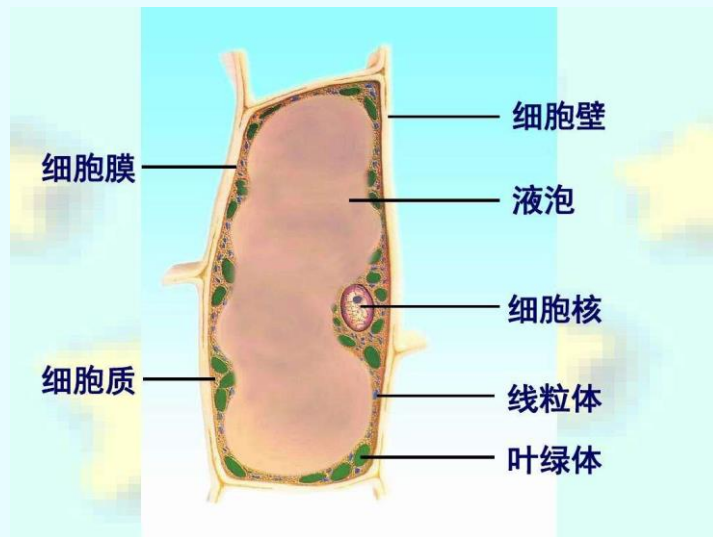
### 3. 描述一下你知道的液泡？大小、形状、数量



洋葱表皮细胞



贝母根细胞



## 实验对象

## 被利用的生物学特点

## 预测的观察结果

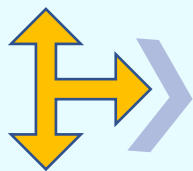


液泡

功能：细胞内浓缩产物的主要场所；排泄

形状：泡状

数量：多个或1个，与细胞分化程度有关



中性红

特点：弱碱PH指示剂，活细胞能向液泡中排泄中性红，液泡呈酸性，中性红解离出大量阳离子而呈现樱桃红色。

液泡中富集了大量显色了的中性红，并非液泡被染色了。

**如果细胞死亡，染料效果？**



## 拓展内容：液泡系

液泡系（vacuolar system）：在电子显微镜下可明确地看到，细胞内内质网、高尔基体、核膜等的囊状结构，它们互相吻合，在细胞内构成复杂的网状结构。

是内膜所包围的小泡和液泡的统称（除线粒体、叶绿体和质体外），共13种。





### 三、实验材料试剂

1. 实验材料：人口腔上皮细胞，洋葱表皮细胞
2. 实验耗材：牙签，载玻片，盖玻片，吸水纸，水浴锅
3. 实验试剂：1%詹纳斯绿B溶液，10%中性红溶液



## 四、实验步骤

### 1. 线粒体的超活染色

- (1) 取清洁载玻片放在 $37^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅的金属板上，滴2滴詹纳斯绿B染液；
- (2) 刮取口腔上皮细胞（洋葱表皮），放入载玻片的染液滴中，染色10~15min；
- (3) 盖上盖玻片，用吸水纸吸去四周溢出的染液，置显微镜下观察；
- (4) 对比动植物线粒体的形态分布区别，并生物绘图。



## 2. 液泡的超活染色

- (1) 取清洁载玻片，滴加中性红染液；
- (2) 洋葱内表皮浸没，室温10min；
- (3) 盖上盖玻片，用吸水纸吸去四周溢出的染液；
- (4) 置显微镜下观察，生物绘图。

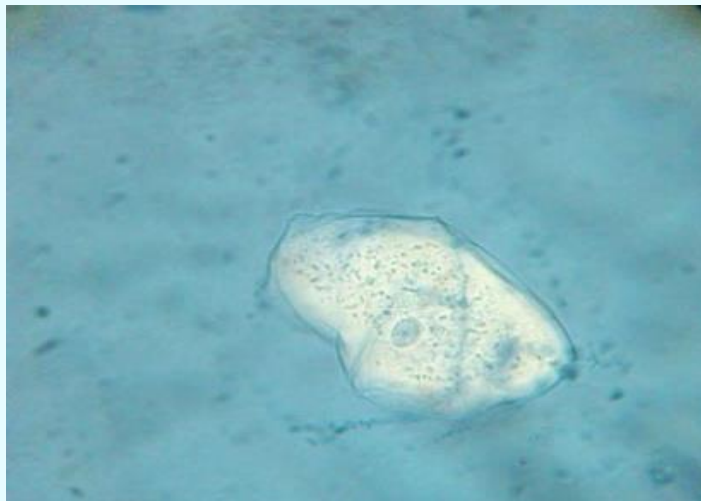
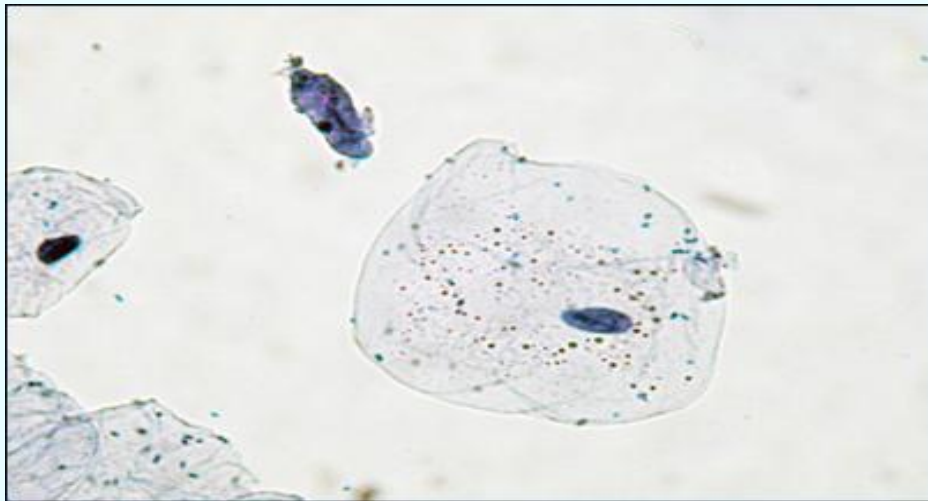


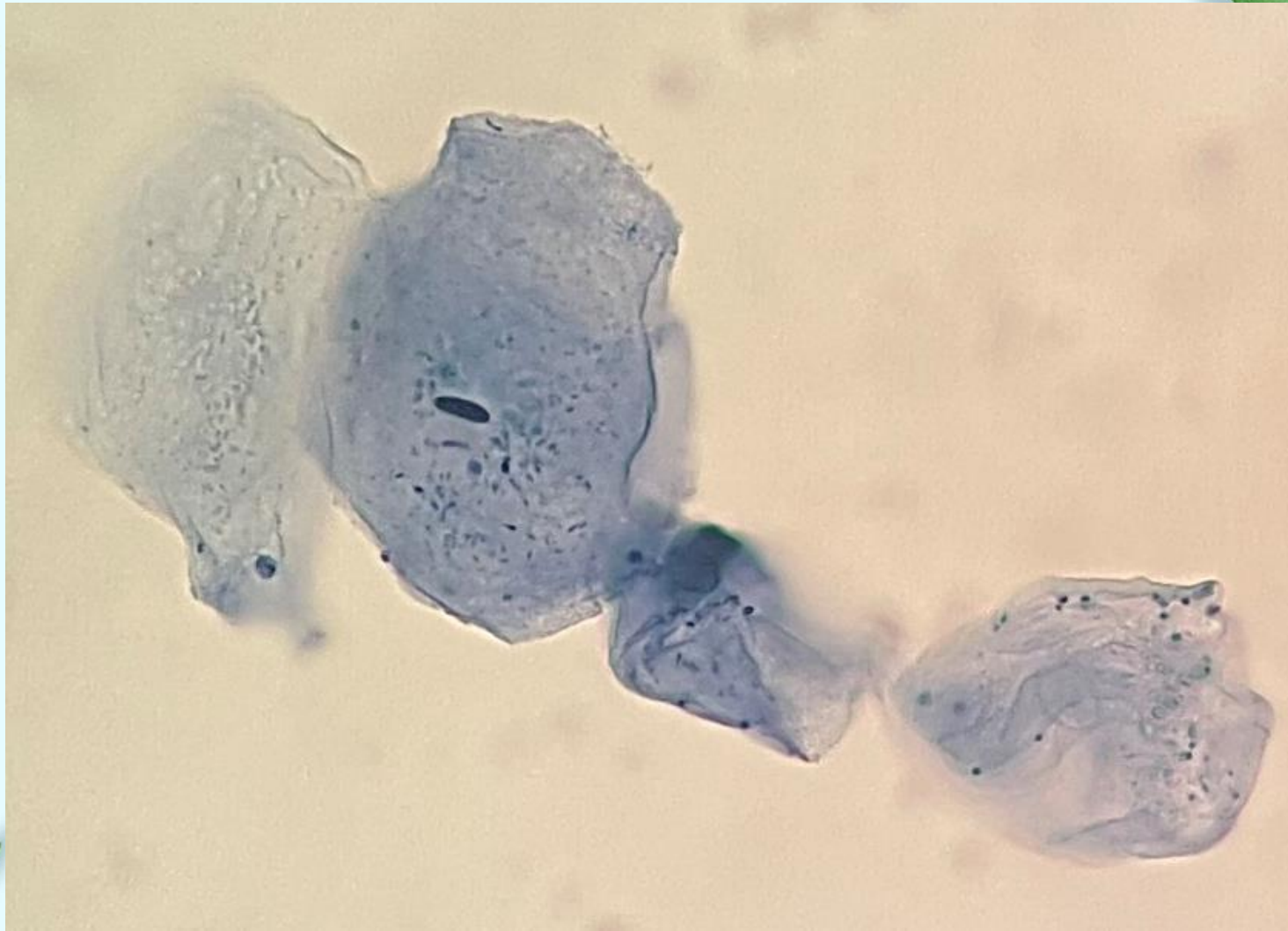
### 3. 洋葱表皮细胞双染

- (1) 取清洁载玻片放在37℃恒温水浴锅的金属板上，滴2滴詹纳斯绿B染液。
- (2) 洋葱表皮放入载玻片的染液滴中，染色10~15min。
- (3) 吸走多余染液，滴加中性红染液10min，
- (4) 吸走多余染液，滴加Ringer液，
- (5) 盖上盖玻片，用吸水纸吸去四周溢出的染液，置显微镜下观察。

## 五、实验结果

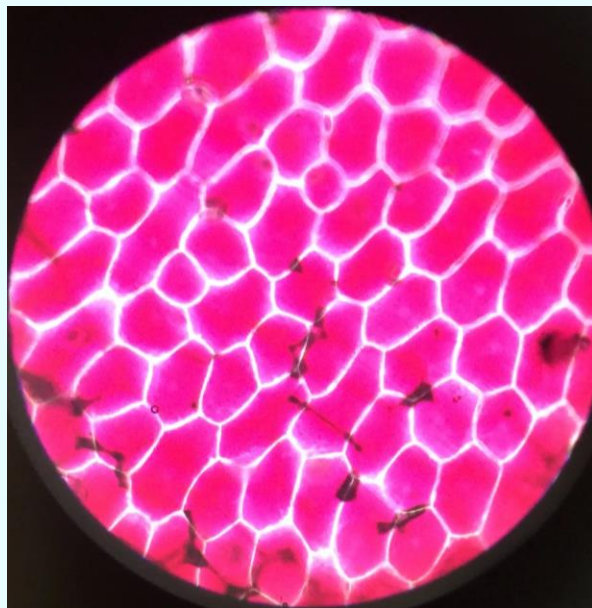
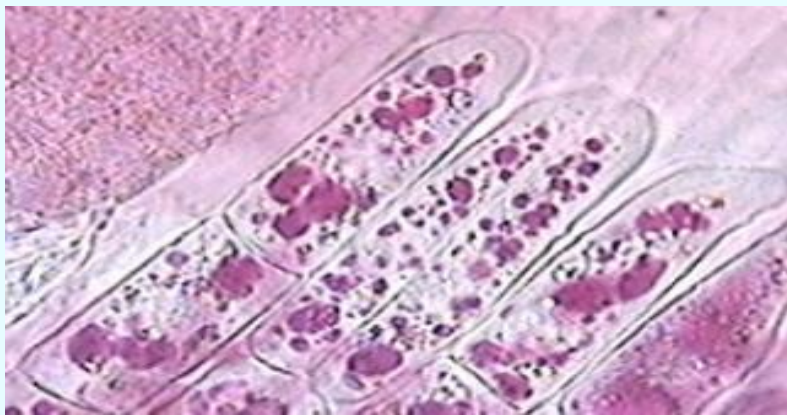
1、**线粒体**：蓝绿色的颗粒状或短棒状的结构





2.初生幼小液泡：根尖部分的生长点的细胞中散在很多大小不等的染成玫瑰红色的圆形小泡。

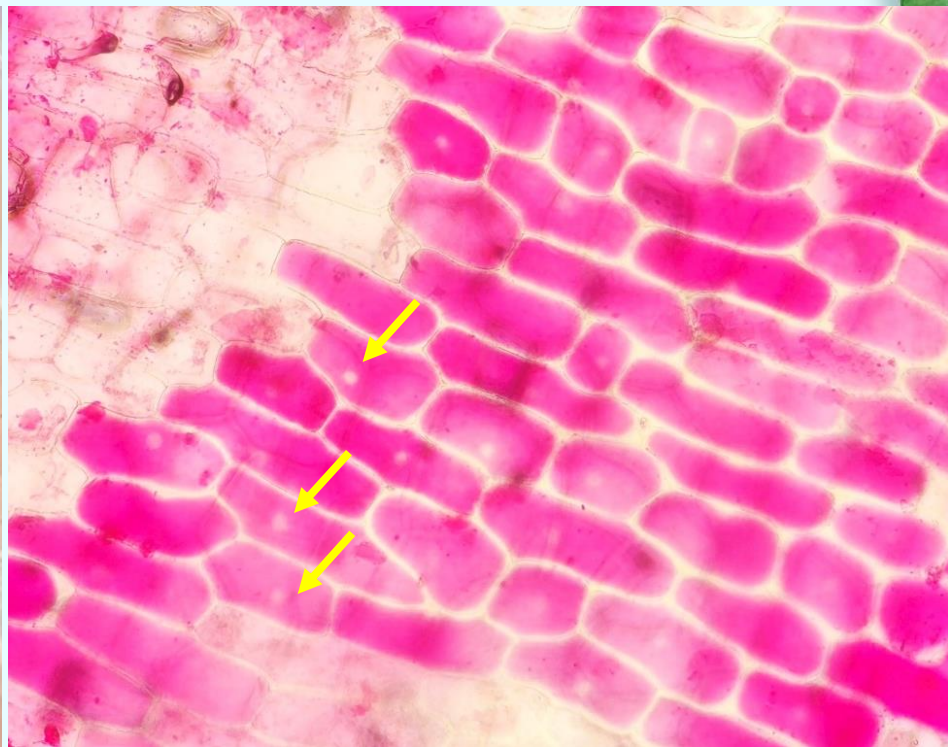
中央液泡：在成熟区细胞中，一般只有一个淡红色的巨大液泡，占据细胞的绝大部分，将细胞核挤到细胞一侧贴近细胞壁处。



线粒体



核区



## 六、注意事项

- 注意不可使染液干燥，必要时可再加滴染液
- 一定是先染液，后样本，保证样本的活性！

## 七、作业

- 1.绘制线粒体和液泡的形态图，并描述其分布及形态，并对结果进行分析总结。
- 2.分析讨论，同样是超活染色，两者染色原理上的区别。

# 思维导图

