



实验八

叶绿体的分离及观察





目的要求

- 通过植物细胞叶绿体的分离，了解细胞器分离的一般原理和方法。



实验原理

将组织匀浆后悬浮在等渗介质中进行差速离心，是分离细胞器的常用方法。叶绿体的分离应在等渗溶液(0.35mol/L氯化钠或0.4mol/L蔗糖溶液)中进行，以免渗透压的改变使叶绿体受到损伤。



实验用品

- 材料：菠菜叶片。
- 试剂：碳酸钙、丙酮、甲醇、醋酸酮、氢氧化钾、乙醚、盐酸。
- 器材：研钵、移液管、吸球、天平、分液漏斗、量筒、试管。



实验方法

一、叶绿体的分离与观察

1. 选取新鲜的嫩菠菜叶，洗净擦干后去除叶梗脉，称30g于150ml 0.35mol/L NaCl溶液中，装入组织捣碎机。
2. 利用组织捣碎机低速(5000r/min)匀浆3~5min。
3. 将匀浆用6层纱布过滤于500ml烧杯中。
4. 取滤液4ml在1000r/min下离心2min。弃去沉淀。
5. 将上清液在3000r/min下离心5min。弃去上清液，沉淀即是叶绿体(混有部分细胞核)。
6. 将沉淀用0.35mol/LNaCl溶液悬浮。



观 察

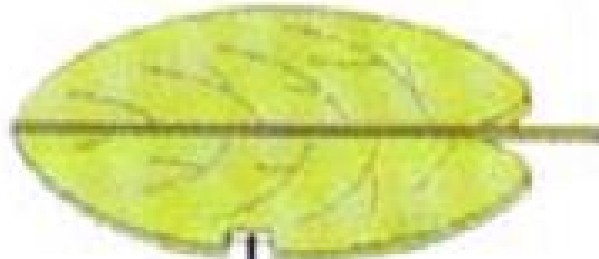
7. 取叶绿体悬液一滴滴于载玻片上，加盖玻片后即可在普通光镜。



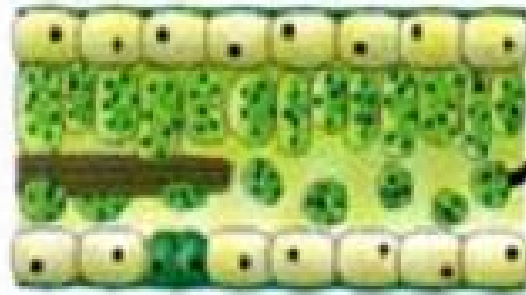
二、菠菜叶手切片观察

用剃须刀片将新鲜的嫩菠菜叶切削出一斜面置于载玻片上，滴加1~2滴0.35mol/L NaCl溶液，加盖片后轻压，置显微镜下观察。

- (1) 在普通光镜下观察。
- (2) 在荧光显微镜下观察其直接荧光。



叶片



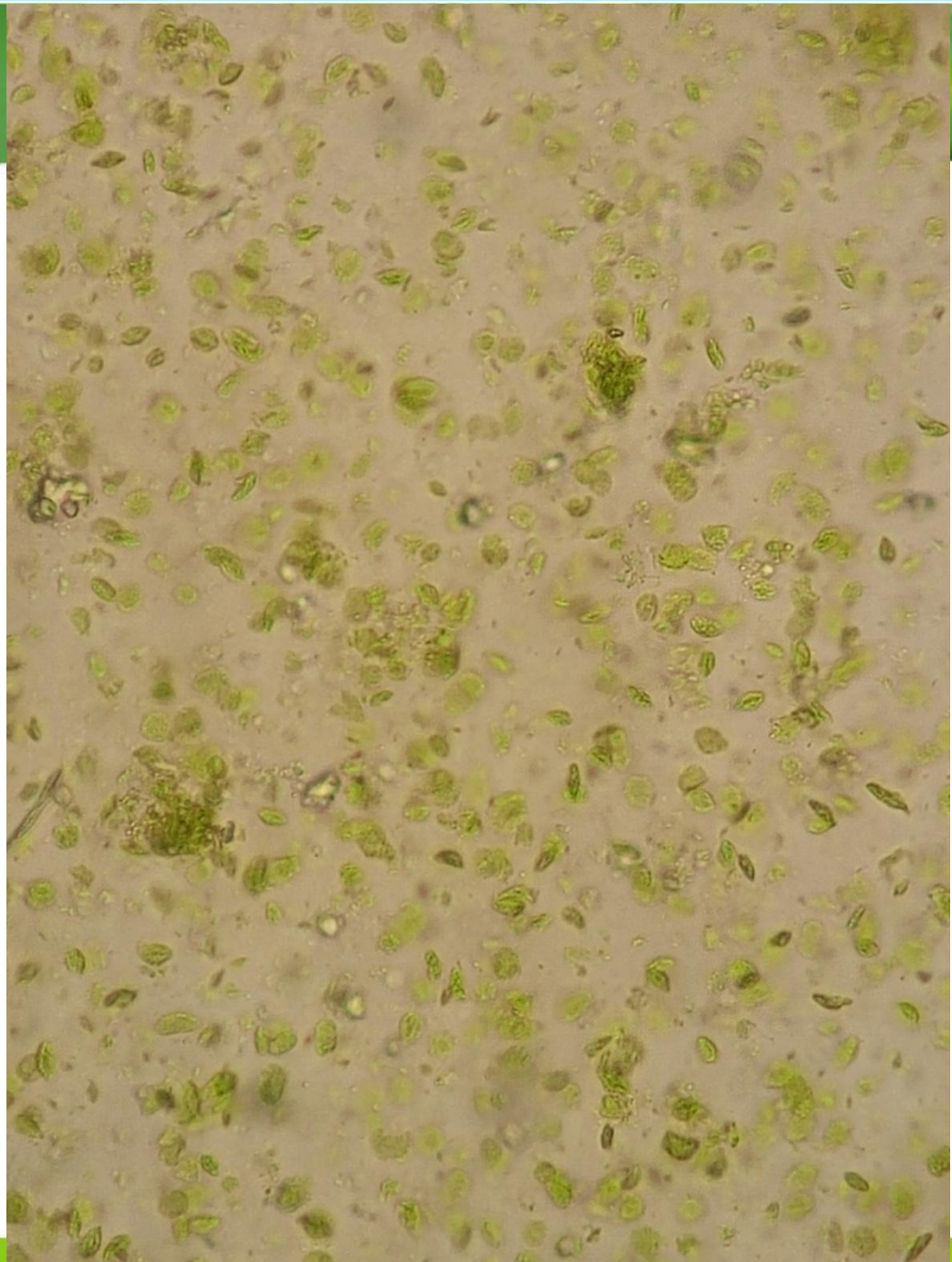
叶片切面

叶绿体



叶肉细胞

植物的叶片和叶绿体



离心机的使用

- 开机 ---选择---记忆---调整转速---记忆；到P0001---记忆---调整时间 ---记忆---选择—离心。

1. 接好电源，打开电源开关。面板显示 00000，3 秒钟闪烁。
2. 按选择键，出现 P0000，为转速设定项。
3. 按记忆键，显示仪器上次运转的频率。
4. 按加键和移位键，输入 4000。
5. 必须按记忆键，存储设定的数值。仪器显示 P4000。
6. 按加键，显示 P0001，为时间设定项。
7. 按记忆键，显示上次运行的时间。
8. 按加键和移位键，输入 10。
9. 必须按记忆键，存储该设定值。显示 P10。
10. 必须按选择键，退出设定。显示 4000 并闪烁。
11. 按离心键，仪器工作并显示实际转速，到设定时间，降速到 00000
在 5 秒钟内打开盖门，取出样品。

登录