



实验七

线粒体的活体染色和观察

生物学实验教学中心

教师：邓为科



一、实验目的：

了解线粒体在细胞中的分布及形态、掌握研究方法。

二、实验原理：



健纳绿B (Janus Green B) 对线粒体具有专一性染色、毒性最小的碱性染料，由于线粒体中细胞色素酶系的作用，使它始终保持氧化状态，并呈现蓝绿色，在线粒体周围的细胞质中的染料被还原为无色的色基。

三、实验材料：

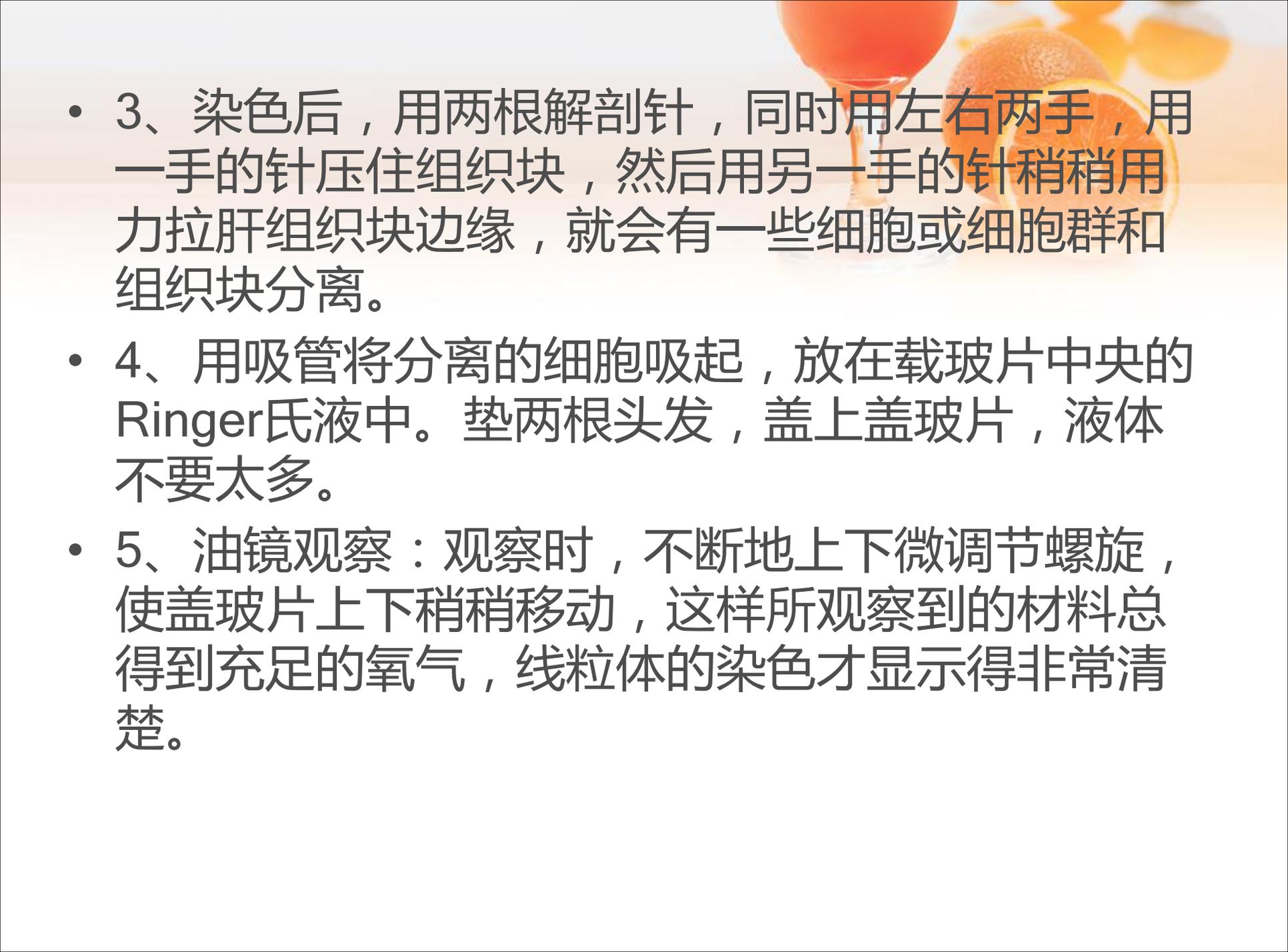
- 常规解剖器、小白鼠肝细胞



四、步骤及方法

- 1、鼠肝边沿较薄组织小块，放入盛有Ringer氏液的培养皿内，洗去血液。
- 2、将1/5000Janus Green B 染液倒入另一培养皿中，将肝组织移入其内，但不可将组织块完全淹没，要让组织上面部分半裸露在染液外面，这样，细胞内的线粒体的酶系可充分得到氧化，线粒体才易染色，一般染30-40分钟（组织块边缘染成蓝绿色即可）。



- 
- 3、染色后，用两根解剖针，同时用左右两手，用一手的针压住组织块，然后用另一手的针稍稍用力拉肝组织块边缘，就会有一些细胞或细胞群和组织块分离。
 - 4、用吸管将分离的细胞吸起，放在载玻片中央的Ringer氏液中。垫两根头发，盖上盖玻片，液体不要太多。
 - 5、油镜观察：观察时，不断地上下微调节螺旋，使盖玻片上下稍稍移动，这样所观察到的材料总得到充足的氧气，线粒体的染色才显示得非常清楚。

注意事项：

1、Ringer氏溶液的配方：



NaCl	8.5/6.5克
CaCl ₂	0.12克
重碳酸钠	0.2克
氯化钾	0.14克
磷酸氢二钠	0.01克
葡萄糖	2.0克
水	1000mL

2、1% 1/5000浓度的健那绿B染液

称取0.5克Janus Green B溶于50mlRinger氏溶液中，微热（30-40℃）使之很快溶解。用滤纸过滤后即成为1%原液。取1%原液1ml加入49mlRinger氏液中，即成1/5000工作液。装入滴瓶中备用。



实验结果



- 可以在油镜下，可见肝细胞质中线粒体被染成蓝绿色，呈颗粒状或线条状，在细胞核周围分布得特别多。
- 根据自己观察到的结果进行结果分析