
课程：生物实验课

实验日期：2024年10月27日

专业班号：少年班2308

姓名：王博想

学号：2233316027

同组者：无

实验名称：细胞凋亡的诱导与形态学观察

一、实验目的

1. 了解细胞凋亡的原理；
2. 掌握体外诱导细胞凋亡的方法；
3. 掌握用普通光学显微镜和荧光显微镜观察凋亡细胞的形态学变化，并根据观察结果判断凋亡的具体阶段；
4. 了解细胞凋亡的常用检测方法。

二、实验原理

细胞凋亡（apoptosis）是多细胞生物在发育过程中，一种由基因控制的主动的细胞生理性自杀行为。典型动物细胞的凋亡过程在形态学上分为三个阶段。

1. 凋亡的起始

细胞体积缩小，表面特化结构如微绒毛等消失，细胞膜依然完整，仍具有选择通透性；细胞质中，内质网肿胀、积液形成液泡，线粒体大体完整；细胞核内染色质固缩，凝集成新月状，沿核膜分布。

2. 凋亡小体的形成

核染色质片段化，与细胞器聚集在一起被内陷的细胞膜包裹，形成球形的结构，成为凋亡小体（apoptotic body）。

3. 吞噬

凋亡小体被临近吞噬细胞吞噬，在溶酶体中被消化分解。

整个凋亡过程中细胞膜保持完整，内容物不会泄露，因而不会引发炎症反应。由于细胞凋亡过程中细胞核变化明显、特征突出，因此细胞核染色质的形态改变常用作判定细胞凋亡进展的指标。

细胞凋亡可以发生在机体正常发育和生理病理等过程中，也可通过人工诱导产生。引起凋亡的因子可分为 3 大类：（1）物理因子，包括射线、较温和的温度刺激等；（2）化学因子，包括重金属离子、活性氧基团等；（3）生物因子，包括生物毒素、肿瘤坏死因子、抗肿瘤药物、DNA 和蛋白质抑制剂等。

VP-16（etoposide，依托泊苷）是干扰细胞周期的抗肿瘤药物，为 DNA 拓扑异构酶 II 的抑制剂，临床上用于治疗白血病、恶性淋巴瘤、小细胞肺癌等多种癌症，可用于体外诱导细胞凋亡。

目前，细胞凋亡的检测常基于凋亡细胞的形态学变化和生物化学特征，常用的方法有：

1. 形态学观察：光镜、电镜、荧光显微镜、倒置相差显微镜；

2. DNA 琼脂糖凝胶电泳；
3. 流式细胞分析；
4. 凋亡细胞的原位末端标记 (TUNEL)；
5. 细胞膜磷脂酰丝氨酸 (PS) 荧光显示等。

本实验使用的Giemsa 染料是一种复合染料，含有天青和伊红，适用于多种细胞的染色质（体）染色。故凋亡细胞染色质的特征变化可被显示。DAPI 为一种荧光染料，既可进入活细胞也可进入死细胞，特异性结合 DNA，从而反映凋亡细胞核的形态学变化，凋亡细胞核可见致密浓染颗粒或块状荧光。

三、实验记录

无