

姓名：程礼彬 学号：19300740005  
实验时间：周五单 座位号：127-2-1

一、 实验名称：洋葱鳞片叶表皮细胞的细胞骨架观察

二、 实验目的：

1. 掌握用光学显微镜观察植物细胞骨架的原理及方法。
2. 认识细胞骨架的形态，联系细胞骨架的功能。

三、 实验原理

1. TritonX-100 可以破坏细胞膜和细胞质中可溶解性的蛋白并不影响细胞骨架。
2. 戊二醛是一种双醛基试剂，可利用醛基与不同多肽的氨基反应实现蛋白交联，从而达到结构固定的效果。
3. 考马斯亮蓝是一种蛋白质染料，可以和多肽链中的碱性氨基酸残基或芳香族氨基酸残基结合，将蛋白质染成蓝色。
4. 使用光学显微镜即可观察到标记后的蛋白质网络结构，即细胞骨架。

四、 实验材料与试剂

1. 材料：洋葱鳞片叶内表皮
2. 试剂：TritonX-100、戊二醛、考马斯亮蓝、PBS、M Buffer

五、 观察结果

1. 低倍镜观察下：细胞的轮廓清晰可见，细胞与细胞之间分界明显；细胞核区域的纤维相对密集，蓝色浓重，甚至分辨不出网络结构；细胞质中清楚观察到蓝色的网状结构

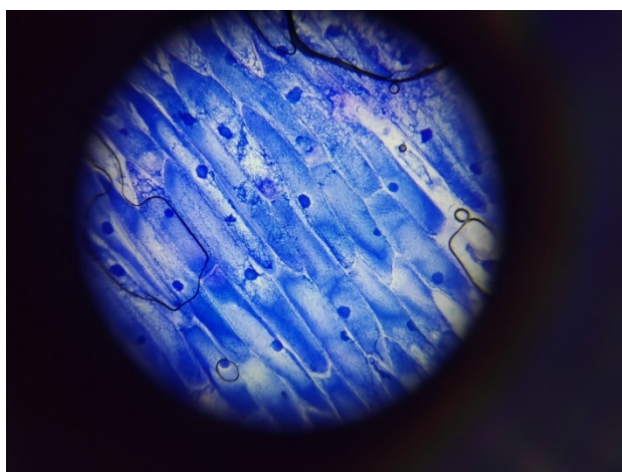


图 1 低倍镜观察下的细胞骨架

2. 高倍镜观察下：蓝色网状结构更加显著，呈现出密集的错综复杂的纤维网络。

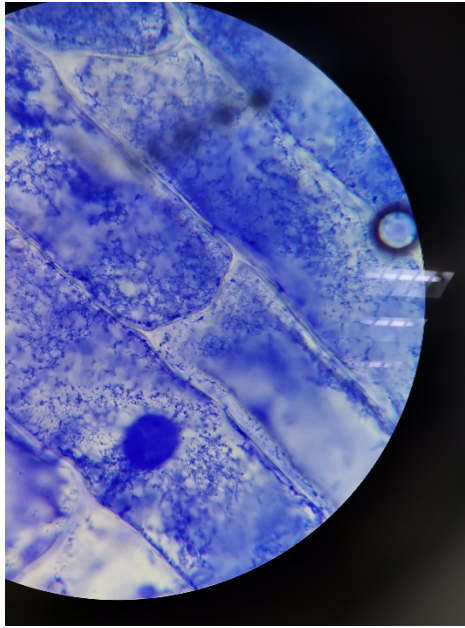


图 2 高倍镜观察下的细胞骨架

#### 六、实验讨论：考马斯蓝是一个理想的染料吗？优点和缺点是什么？

考马斯蓝可以和多肽链中的碱性氨基酸残基或芳香族氨基酸残基结合，将蛋白质染成蓝色。在某种程度上是较为理想的染料。

优点：操作便捷，仅需反复滴加试剂；染色速度较快；染色后用普通的光学显微镜即可观察到(vs 荧光染料：操作较为复杂；有一定毒性；染色后需用昂贵的荧光显微镜观察)。

缺点：作为一种广普性染料，不具有特异性。染色前需去除非骨架蛋白(vs 荧光染料：特异性染料，无需去除非骨架蛋白)。

对实验的思考：我们做了六组切片，不同切片的细胞骨架在密集度，分布、染色情况有一定的差异，这可能与不同洋葱细胞的生理状态以及 TritonX-100 的处理时间有关。