

“骨髓细胞染色体制备和核型分析”教学实践

余振宇

福建医科大学基础医学院细胞生物学与遗传学系 福建福州

【摘要】目的：提高细胞生物学实验的教学效果和培养学生创新能力。**方法：**在“小鼠骨髓细胞的染色体制备、观察和核型分析”一节教学中，采用创新性实验设计教学法，通过学生查阅文献、设计创新性实验和团队合作，引导学生掌握和优化染色体实验的关键步骤。**结果：**创新性实验设计及教学提高了实验的成功率，提高了学生参与实验的积极性，锻炼了学生的实验操作能力。**结论：**创新实验教学法培养了学生的科研创新能力，可为高等院校细胞生物学实验教学提供借鉴。

【关键词】细胞生物学实验；教学设计；染色体制备；核型分析

【基金项目】福建省自然科学基金青年创新项目（编号：2019J05071）；福建医科大学高层次人才科研启动经费计划项目（编号：XRCZX2017025）

Teaching practice of “chromosome preparation and karyotype analysis of bone marrow cells”

ZhenYu She

*Department of Cell Biology and Genetics, The School of Basic Medical Sciences,
Fujian Medical University, Fuzhou 350122, Fujian, China*

【Abstract】Objective: to improve the teaching effect of cell biology experiment and cultivate students' innovation ability. **Methods:** in the section of “Preparation, observation and karyotype analysis of mouse bone marrow cell chromosomes”, the author used the innovative experiment design teaching method to guide the students to read literature, design innovative experiment and cooperate with other students. The author guided the students to master and optimize the key procedures of chromosome experiment. **Results:** the innovative experimental design and teaching improved the success rate of the experiment, improved the enthusiasm of students to participate in the experiment, and trained the students' experimental operation ability. **Conclusion:** the innovative experimental design and teaching cultivates the scientific research innovation ability of the students, which can provide reference for experimental teaching of cell biology in colleges and universities.

【Keywords】 Cell Biology Experiment, Teaching Design, Chromosome Preparation, Karyotype Analysis

1 实验设计思路

染色体标本的制备、观察和核型分析是生物遗传和变异的重要研究内容，且对遗传病的预防、诊断和治疗具有重要意义^[1]。制备小鼠骨髓细胞染色体的实验是医学院校临床医学、基础医学和生物科学等专业学生的必修实验课程^[2]。传统的小鼠染色体制备及观察实验存在实验周期长、操作步骤复杂、重复性低和实验教学效果差等缺点，不利于实验教学的广泛应用^[3]。笔者通过多年实验教学实践，以“小鼠骨髓细胞的染色体制备、观察和核型分析”这一实验作为教学内容，改进实验课堂的教学设计，

融入创新性实验设计教学方法^[4]，引导学生优化实验步骤，培养了学生的实验操作能力，提高了学生分析和解决科学问题的能力。

2 实验教学内容

本实验教学共 4 学时，学生每组 4 人。教师课前发布细胞生物学实验指导和实验报告单，学生通过 PubMed 和万方等数据库查阅中英文文献，进行创新性实验设计。第 1 学时：教师通过多媒体 PPT 讲授染色体制片和核型分析的原理，实验步骤和注意事项。目的是通过介绍染色体低渗技术的发现和改良历史，使学生掌握染色体制片的原理和实验步

骤 第 2-3 学时: 学生根据实验设计方案进行实验, 完成染色体制片。目的是使学生掌握小鼠解剖、骨髓细胞收集、细胞固定、低渗处理、离心实验和 Giemsa 染色等方法。第 4 学时: 学生进行显微镜观察、核型分析和讨论, 完成实验报告和成果展示, 授课教师指导总结。

2.1 实验材料与仪器

1) 材料与试剂: 4-8 周龄 ICR 小鼠(雌雄不限, 购自福建医科大学动物实验中心)、100 $\mu\text{g/ml}$ 秋水仙素溶液(国药集团化学试剂有限公司)、低渗液(0.075 mol/L KCl 溶液)、固定液(甲醇-冰醋酸混合液, 体积比为 3: 1)、Giemsa 染色液和 0.25% 胰酶(Gibco)。

2) 仪器与设备: 低速台式离心机(上海安亭科学仪器厂, 型号: TDL-80-2B)、光学显微镜(Nikon, 型号: E100)、恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司)、微量移液器、载玻片、解剖盘、医用剪刀、纱布、10 ml 和 1.5 ml 离心管、染色架、香柏油和记号笔。

2.2 实验操作流程

实验流程包括 3 部分: 第 1 部分, 小鼠秋水仙素处理、解剖和骨髓细胞收集; 第 2 部分, 细胞低渗处理和染色体制片; 第 3 部分, 染色、显微镜观察和核型分析。

2.2.1 小鼠秋水仙素处理、解剖和骨髓细胞收集 实验前 4 h 按 2 $\mu\text{g/g}$ 体重比往小鼠腹腔注射秋水仙素。颈椎脱臼法处死小鼠, 解剖剪剖开腿部肌肉, 分离得到股骨。剪去股骨两端, 注射器吸取 5 ml 0.075 mol/L KCl 溶液冲洗骨髓腔, 收集骨髓细胞至 10 ml 离心管。

2.2.2 细胞低渗处理和染色体制片 将离心管在

37°C 水浴锅低渗处理 20 min, 加入固定液 0.2 ml 预固定, 吸管轻轻吹匀。2000 rpm/min 离心 5 min 收集沉淀。加入 5 ml 固定液固定 10 min。2000 rpm/min 离心 5 min, 收集沉淀, 再加入 1 ml 固定液, 制备细胞悬液。吸管吸取细胞悬液从约 40 cm 高度滴 4-5 滴悬液于预冷冰载玻片, 酒精灯快速烤干 5 s。

2.2.3 染色、显微镜观察和核型分析 直接染色法: 玻片置于染色架, Giemsa 染色 7 min, 自来水冲洗和晾干。染色体 G 带显色法: 玻片在 0.25% 胰酶溶液消化 1 min, 蒸馏水浸泡 2 min, Giemsa 染色 7 min, 自来水冲洗和晾干。显微镜观察, 统计 20 个细胞的染色体数量, 根据染色体形态和 G 带特征进行核型分析。

2.2.4 实验操作要点和优化设计

1) 低渗溶液的浓度、处理时间和温度是关键步骤。一般采用 0.075 mol/L KCl 溶液 37°C 处理 20 min。学生可参考文献进行设计, 考虑不同低渗液、不同的浓度和时间组合。

2) 离心速度和时间是实验的影响因素。离心速度过高易导致细胞破裂, 而离心速度低易降低细胞收获效率。

3) 滴片高度一般选择 30-50 cm 高度, 可获得较分散的染色体分裂相。

4) 胰酶消化时间。一般采用 0.25% 胰酶 37°C 消化 1-2 min。

上述 4 个实验要点是实验关键步骤, 学生均可查阅文献、讨论和优化设计。

2.3 实验报告单

教师设计创新性思考题, 制作成实验报告单发给学生。目的是培养学生分析实验结果和思考科学问题的能力。实验报告单见表 1。

表 1 “小鼠骨髓细胞的染色体制备、观察和核型分析”实验报告单

学号:	姓名:	
实验关键步骤	相关原理	科学问题和讨论
1、秋水仙素处理		1、秋水仙素的作用机制? 缺少此步骤会导致何种结果?
2、低渗处理		2、低渗溶液如何选择? 处理时间过长或过短有何影响?
3、滴片		3、实验观察到的染色体数目? 与理论值比较及原因分析。
4、核型分析		4、“染色体制片及核型分析”在医学的应用和意义?

2.4 实验教学结果讨论

问卷调查发现与采用传统实验法的对照组相比,

创新性实验组学生对实验课程的满意率由 88.3% 提高至 98.3%。并且, 96.7% 的创新实验组学生认为探

索性实验提高了自主学习能力、基础研究意识和科学研究能力。笔者通过课程考试对学生理论知识水平、实验操作技能和知识应用能力进行考核,发现创新性实验设计教学法提高了学生对理论知识的掌握和应用能力。参与创新实验设计的学生实验操作更加规范和熟练,且综合实验成绩优于传统对照组。另外,创新性实验组学生的实验积极性较高,染色体制备及核型分析实验的成功率亦高于对照组。

3 教学总结

在“小鼠骨髓细胞的染色体制备、观察和核型分析”的教学中,笔者引入文献调研和创新性实验设计,利用医学和生物数据库引导学生查阅文献,独立思考和设计创新性实验方案,培养了学生的科研思维,得到良好的教学效果。创新性实验组学生制备和观察到的染色体分散性和清晰度较好,实验成功率为70%,明显优于传统实验组的40%。传统实验教学过程中,实验步骤单一且固定不变,教学和实验方式简单,学生对实验原理、关键步骤和注意事项了解较少,导致学生学习积极性低和学习效果较差,实验结果较难达到预期要求。通过文献阅读和创新性实验设计,培养了学生查找文献资料和设计实验关键步骤的能力,使学生充分了解实验原理和要点。在实验设计过程中,学生可优化和设计实验步骤,从而提高了学生的实验积极性和实验操作能力。

在教学过程中,笔者发现部分学生理解英文文献较困难,授课教师可提供双语参考文献和加强学生的专业英语训练来提高教学质量。综上所述,本次创新性实验设计教学以学生为主体,激发了学生的实验积极性,锻炼了学生分析和解决科学问题的

能力,提高了染色体实验的教学效果,可为医学院校的细胞生物学实验教学提供参考。

参考文献

- [1] 李楠,郭海滨,李亚娟,等.细胞遗传学综合性实验的设计与实践[J].实验室研究与探索,2019,38(9):200-203,207.
- [2] 高振华,吴浩浩,赵志辉,等.小鼠骨髓细胞有丝分裂染色体标本制备方法的优化[J].安徽农业科学,2019,47(7):102-103,106.
- [3] 李栋,张亚龙,刘俊,等.小鼠骨髓细胞染色体G显带制备实验的问题与改进[J].生物学通报,2012,47(9):48-49.
- [4] 薛雅蓉,刘常宏.细胞生物学“半开放设计性实验”教学的意义与实施方法[J].实验技术与管理,2013,30(8):167-170.
- [5] 张红锋,孙剑华.创建基于研究的细胞生物学实验教学模式[J].实验室研究与探索,2008,27(7):99-101.

收稿日期: 2020年9月3日

出刊日期: 2020年10月19日

引用本文: 余振宇,“骨髓细胞染色体制备和核型分析”教学实践[J].细胞与分子生物学研究,2021,1(1):1-3.
DOI: 10.12208/j.ijcmbr.20200001

检索信息: 中国知网(CNKI Scholar)、万方数据(WANFANG DATA)等数据库收录期刊

版权声明: ©2021 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS