



齐凤慧 闫绍鹏 王 荣 编

SHENGMING KEXUE
CHANGYONG
YIQI YUANLI JI
SHIYONG JISHU

生命科学常用 仪器原理及使用技术



东北林业大学出版社

生命科学常用仪器原理及使用技术

齐凤慧 闫绍鹏 王 荣 编

150

东北林业大学出版社

图书在版编目 (C I P) 数据

生命科学常用仪器原理及使用技术 / 齐凤慧, 闫绍鹏, 王荣编. -- 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2011.7
ISBN 978-7-81131-883-8

I. ①生… II. ①齐… ②闫… ③王… III. ①生物科学仪器 IV. ①TH79

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 142617 号

内容简介

本教材本着体系完整合理、内容详细、讲解清晰明了的原则,由从事多年生命科学相关教学、科研及仪器使用管理者合作完成。本教材将对一些经典、常规、高新的生命科学仪器使用原理及技术进行归纳总结,包括显微镜设备、色谱设备、分光光度计、培养及干燥箱、称量设备、离心机、生物切片设备、电泳技术、凝胶成像设备、核酸扩增分析设备、无菌操作设备、植物光和测定系统以及其他常用仪器设备。

本教材可供高等院校生物技术研究领域的学生和研究者作为教材和工具书使用,也可以作为仪器设备维修工作者及仪器管理者的参考书。

责任编辑:杨秋华

封面设计:彭宇



NEFUP

生命科学常用仪器原理及使用技术

Shengming Kexue Changyong Yiqi Yuanli Ji Shiyong Jishu

齐凤慧 闫绍鹏 王荣 编

东北林业大学出版社出版发行

(哈尔滨市和兴路 26 号)

哈尔滨市石桥印务有限公司印装

开本 787 × 960 1/16 印张 11 字数 210 千字

2011 年 7 月第 1 版 2011 年 7 月第 1 次印刷

印数 1—1 000 册

ISBN 978-7-81131-883-8

定价: 22.00 元

前言

什么叫生命科学仪器？20 世纪 80 年代中期，人们只是把基因扩增仪（PCR）、核酸蛋白分析仪、酶标仪、细胞检测仪、生化分析仪等为数不多的仪器作为生命科学仪器，应该说这只是狭隘的定义。今天，随着生命科学和生命科学仪器的发展，特别是它们两者之间的相互依存、相互促进，使得人们对生命科学仪器的认识也在不断提高、深化和升华。科学家对生命科学仪器已经广义地定义为“生命科学研究和生物技术领域使用的仪器”。

当今的生命科学已从过去的描述性、实验性的科学向定量科学过渡。要定量就要有分析，要分析就要有仪器。所以，生命科学的过渡离不开生命科学仪器。美国的 Hood 教授指出：近 20 年来，生物医学迅速发展的两条主要原因之一就是生物技术和科学仪器的相互配合、紧密结合。目前，生命科学仪器正向超高速、超微量和超小型方向发展；新的生命科学仪器大量涌现令人眼花缭乱；特别是联用技术中的突破性进展令人耳目一新。这些事实说明了生命科学仪器在生命科学研究中的重要地位；同时，对从事生命科学学习的学生和生命科学研究的科技工作者使用仪器的能力要求也越来越高，因此，我们组织编写了《生命科学常用仪器原理及使用技术》一书。

本书共 12 章，主要结合进行生命科学研究常用仪器而编写。对一些经典、常规、高新的生命科学仪器的使用原理及技术进行归纳总结，包括显微镜设备、色谱设备、分光光度计、培养及干燥箱、称量设备、离心机、生物切片设备、电泳技术及凝胶成像设备、核酸扩增分析设备、无菌操作设备、植物光和测定系统以及其他常用仪器设备。本书可为本科生创新实验和撰写毕业论文以及研究生的科学研究实验提供参考。

本书具有以下主要特色：

（1）将一些经典、常规、高新的生命科学仪器使用原理及技术进行归纳总结，为高等院校生物技术研究领域的学生和从事生命科学的研究者提供参考；

（2）每台仪器都有“注意事项”，不仅有助于学生对仪器原理与操作的理解，而且有助于学生更好地利用和使用仪器，延长仪器寿命；

（3）本书在仪器操作上进行图文并茂的讲述和规范的使用指导，有操作过程直观、使用提示清晰的效果；

(4) 本书由实验室仪器使用管理人员, 结合自己的科研和仪器使用经验编写, 具有较高的参考价值。

感谢东北林业大学出版社的同志们对本书出版的大力协助与支持。

本书的编写人员都是教学科研与实验室管理方面的教师, 但限于编者的水平和经验不足, 难免存在疏漏和差错, 敬请广大教师和读者给予批评指正, 提出宝贵意见。

编 者

2011 年 6 月

目 录

1 显微技术及常用显微镜	(1)
1.1 普通光学显微镜	(1)
1.2 解剖显微镜	(4)
1.3 荧光显微镜	(6)
1.4 倒置显微镜	(10)
1.5 激光共聚焦显微镜	(12)
1.6 生物显微镜的擦拭和保养	(20)
1.7 镜检过程中常出现的问题及其分析解决的途径	(21)
2 分光光度计	(22)
2.1 可见分光光度计	(22)
2.2 紫外/可见分光光度计	(24)
2.3 荧光分光光度计	(29)
2.4 酶标仪	(33)
3 离心机设备	(38)
3.1 离心机工作原理	(38)
3.2 离心机使用技术	(38)
4 生物切片设备	(47)
4.1 普通切片机原理	(47)
4.2 切片机使用技术	(47)
5 色谱设备	(52)
5.1 高效液相色谱	(52)
5.2 气相色谱	(64)
6 培养及干燥设备	(68)
6.1 培养箱	(68)
6.2 电热鼓风干燥箱	(73)
6.3 真空干燥箱	(75)
6.4 旋转蒸发仪	(78)
6.5 真空冷冻干燥机	(80)

7	电泳技术及凝胶成像设备	(83)
7.1	电泳仪的基本原理	(83)
7.2	电泳仪的使用技术	(83)
7.3	水平电泳系统	(85)
7.4	垂直电泳系统	(88)
7.5	双向电泳系统	(91)
7.6	凝胶成像系统	(100)
8	核酸扩增分析及转移设备	(104)
8.1	PCR 仪原理	(104)
8.2	PCR 技术的基本原理	(104)
8.3	PCR 仪使用技术	(105)
9	无菌操作设备	(124)
9.1	超净工作台	(124)
9.2	生物安全柜	(126)
10	称量移取设备	(130)
10.1	天平	(130)
10.2	移液器	(133)
11	植物光合测定系统	(137)
11.1	水势仪	(137)
11.2	渗透压仪	(139)
11.3	叶绿素荧光仪	(141)
11.4	光合作用测定系统	(145)
12	其他常用设备	(155)
12.1	高压消毒锅	(155)
12.2	酸度计	(156)
12.3	超声波细胞粉碎机	(159)
12.4	磁力搅拌器	(163)
12.5	紫外分析仪	(164)
12.6	数显恒温水浴锅	(166)
	参考文献	(169)

1 显微技术及常用显微镜

1.1 普通光学显微镜

1.1.1 光学显微镜基本原理

光学显微镜的基本原理是利用可见光（波长 380 ~ 760 nm）照明，使微小物体放大成像的仪器，即光学显微镜。这种放大像可用肉眼观察、摄影或用光电管以及其他接收器进行探测。光学显微镜的基本结构主要由机械部分、照明部分和光学部分（反光镜、聚光镜、光圈、目镜、物镜等）组成，可分为简单和复式两种类型。简单显微镜即放大镜，放置于物体和肉眼之间，使微小物体放大成虚像。复式显微镜由两组透镜或透镜系统组成。第一组透镜（即物镜）形成物体的放大像，第二组透镜（即目镜）放大第一组透镜形成的像。典型的复式光学显微镜由支架、反光镜、聚光镜、载物台、镜筒、物镜、目镜以及调节镜筒或载物台移动的机械装置组成。反光镜的作用是使光线通过反射面进入仪器；载物台下的聚光镜，可增强对样品的照明能力；物镜在镜筒中形成一个中间的实像；目镜则放大中间像，在接近样品平面处形成一个虚像（当用肉眼观察时），或在目镜上方的照相底片平面上形成一个实像。

1.1.2 普通生物显微镜使用技术

【仪器名称】

BX3 正置研究级显微镜。

【规格型号】

BX43, BX46, BX53。

【生产厂家】

日本奥林巴斯公司。

【结构】

BX3 正置研究级显微镜的结构如图 1-1 所示。

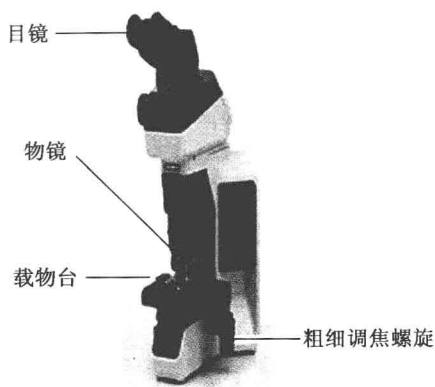


图 1-1 BX3 正置研究级显微镜

【操作步骤】

(1) 显微镜的安放、检查。打开存放显微镜的柜子，右手握住镜臂，左手平托镜座，将其轻放在工作台上（图 1-2A），使之距工作台边缘 5 ~ 10 cm，将目镜转向观察者，检查各部件是否完好，光学部件、机械部件是否清洁。

(2) 通电对光。将电源线插到电源插座上，打开显微镜上的开关。将切片正确放置在载物台上，用压片夹固定，转动载物台的纵横移动手轮（图 1-2B），使要观察的标本移动到聚光镜中央，调整光线，以获得所需的最佳亮度。拨动聚光镜的孔径光栏拨杆，可改变孔径光栏大小，从而改变被观察标本的衬度。一般情况下，孔径光栏可开启到物镜出瞳直径的 70% ~ 80% 即可获得衬度良好的图像。

(3) 瞳孔调整。瞳距因人而异，所以使用显微镜前均应重新调整双目的瞳距，双手分别握住双目左右支架转动，直至双目看到的光环完全重合。双目观察调焦时，应先以右筒、右眼观察，使右筒调焦清晰；再从左筒观察，同时调节左筒上的视度调节圈，使左筒成像与右筒同样清晰。

(4) 调焦。显微镜一般都是粗调和微调同轴调焦，低手位操作。首先将物镜调到最小倍数，通常用 10 × 物镜。将 10 × 物镜置入光路，转动粗准焦螺旋，用右眼从右目镜中观察，见物像大致轮廓后，再慢慢转动微准焦螺旋，使成像逐渐清晰，直至满意为止（图 1-2C）。如需要高倍镜观察，可将高倍物镜（油镜除外）置入光路，转动微准焦螺旋，使成像逐渐清晰，直至获得满意效果。

(5) 油浸物镜的使用。在高倍镜下看到标本后，把需要进一步放大的

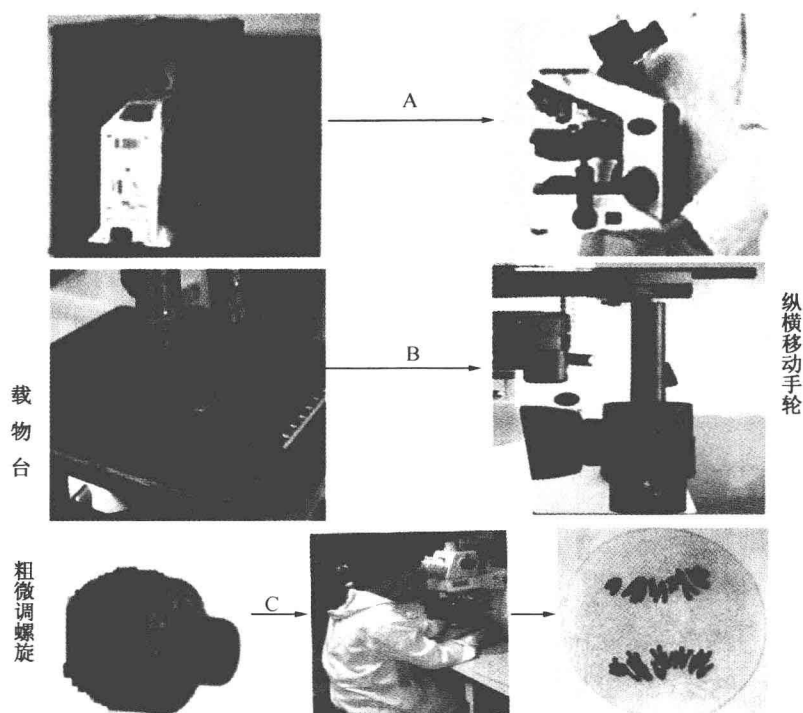


图 1-2 显微镜的操作

部位移至视野中心，下降载物台约 1.5 cm。将物镜转离光轴，在盖玻片所要观察的部位上滴一滴香柏油，把光阑升至最大。换上油镜，小心调节粗准焦螺旋，使载物台慢慢上升，从侧面观察油镜下端与标本之间的距离，当油镜的下端开始触及油滴时即可停止。从目镜观察，调节细准焦螺旋，直至看清标本物像。

观察完毕，下降载物台，将油镜转离光轴，用干的擦镜纸轻轻地吸掉油镜和盖玻片上的油，再用浸过二甲苯的擦镜纸擦拭两三次，最后用干净的擦镜纸再擦拭两三次。

(6) 观察后的处理工作。清洁：显微镜上的污物（残物或灰尘），用擦镜纸擦干净；若擦不干净，可蘸少许二甲苯进行擦拭。

显微镜各部分的放置：擦完后，把光线调至最低，把物镜转置最小倍数。载物台降到最低，罩上镜套，小心地放回镜箱内，保存备用。

【注意事项】

(1) 显微镜为精密光学仪器，出厂前已经过精密调校，不能随意自行拆卸。

(2) 取放时动作一定要轻, 切忌振动和暴力, 否则会造成光轴偏斜而影响观察。

(3) 变换不同倍率物镜时, 切勿直接搬动物镜来转动物镜转换器, 应手持转换器的齿纹部分来转动转换器, 使物镜准确定位并进入光路。长期用手搬动物镜来转换镜头的不规范操作, 可使螺丝松动, 影响显微镜的成像效果。

(4) 使用油镜观察完毕后, 应立即用镜头纸或软棉布等蘸适量乙醇与乙醚的混合液 (比例 1:4) 或二甲苯将仪器及切片上的浸油擦拭干净。

(5) 使用时不可用手摸光学玻璃部分, 如需擦拭应严格按照光学部件擦拭要求进行。

1.2 解剖显微镜

1.2.1 解剖显微镜原理

解剖显微镜又称实体显微镜或立体显微镜, 是为不同的工作需求所设计的显微镜。

解剖显微镜的基本结构包括镜体, 其中装有几组不同放大倍数的物镜; 镜体的上端安装双目镜筒, 其下端的密封金属壳中安装五组棱镜组, 镜体下面安装一个大物镜, 使目镜、棱镜、物镜组成一个完整的光学系统。物体经物镜做第一次放大后, 由五角棱镜使物像正转, 再经目镜做第二次放大, 使在目镜中观察到正立的物像。在镜体架上还有粗调和微调手轮, 用以调节焦距。双目镜筒上安装目镜, 目镜上有目镜调节圈, 以调节两眼的不同视力。

解剖显微镜的光路设计有两种: The Greenough Concept 和 The Telescope Concept。在观察物体时能产生正立的三维空间影像, 立体感强, 成像清晰和宽阔, 又具有长工作距离, 是适用范围非常广泛的常规显微镜, 操作方便、直观、检定效率高, 适用于电子工业生产线的检验、印刷线路板的检定、印刷电路组件中出现的焊接缺陷 (印刷错位、塌边等) 的检定、单板 PC 的检定、真空荧光显示屏 VFD 的检定等, 配测量软件可以测量各种数据。

1.2.2 解剖显微镜使用技术

【仪器名称】

解剖显微镜。

【规格型号】

SZ51, SZ61。

【生产厂家】

日本奥林巴斯公司。

【结构】

解剖显微镜的结构如图 1-3 所示。

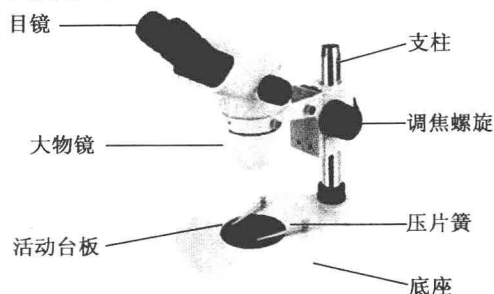


图 1-3 解剖显微镜

【操作步骤】

解剖显微镜操作方法如图 1-4 所示。

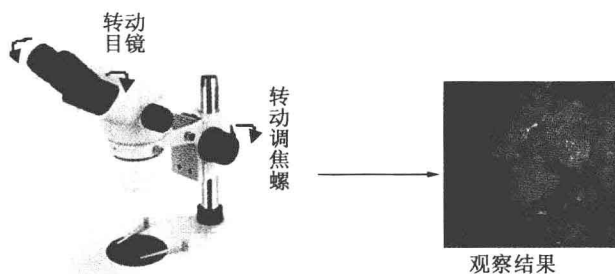


图 1-4 解剖显微镜操作方法

(1) 打开存放解剖镜的柜子，右手握住镜臂，左手平托镜座，小心平稳地取出轻放在工作台上，距工作台边缘 5 ~ 10 cm，将目镜转向观察者，检查各部件是否完好，光学部件、机械部件是否清洁。

(2) 取下镜管上的防尘罩，将所观察的物体置于玻片上或蜡盘中，再放到载物盘上，待观察。

(3) 将电源线插到电源插座上，打开解剖镜上的开关。

(4) 观察时，先转动目镜管，使两个目镜间的宽度适合于两眼间的距离。然后转动升降螺丝，使无视觉圈的目镜成像清晰，同时转动视觉圈，使

另一目镜的物像清晰。需要放大观察时，转动倍率盘。

(5) 调节焦距时，转动升降螺丝应适度，不要用力过猛，以免滑丝。

(6) 用毕后，清理载物盘，将光亮度调制最低，倍率盘也转到最低，把镜身擦干净，放入镜箱内。

【注意事项】

(1) 防潮、防尘、防热、防剧烈振动。

(2) 不能拆修，严格遵守操作步骤，发生故障时及时报告。

(3) 禁止在短时间内频繁开启和关闭电源，应该在关闭电源 15 min 后才能再次启动电源。否则，很容易损坏设备。

(4) 禁止用该设备观察有腐蚀性、挥发性和有毒的样品，否则极容易破坏设备。

(5) 底座上面承物的圆形玻璃是一种特殊的滤光片，通过该片能获得真实颜色的图像，禁止用金属等表面不光滑的样品使用该设备。

1.3 荧光显微镜

1.3.1 荧光显微镜基本原理

荧光显微镜是免疫荧光细胞化学的基本工具，由光源、滤板系统和光学系统等主要部件组成。是利用一个高发光效率的点光源，经过滤色系统发出一定波长的光作为激发光，激发标本内的荧光物质发射出各种不同颜色的荧光后，再通过物镜和目镜的放大进行观察。这样在强烈的对衬背景下，即使荧光很微弱也易辨认，敏感性高，主要用于细胞结构和功能以及化学成分等的研究。

荧光显微镜的基本构造是由普通光学显微镜加上一些附件（如荧光光源、激发滤片、双色束分离器和阻断滤片等）的基础上组成的。荧光光源一般采用超高压汞灯（50 ~ 200 W），它可发出各种波长的光，但每种荧光物质都有一个产生最强荧光的激发光波长，所以需加用激发滤片（一般有紫外、紫色、蓝色和绿色激发滤片），使一定波长的激发光透过照射到标本上而将其他光都吸收掉。每种物质被激发光照射后，在极短时间内发射出较照射波长更长的可见荧光。荧光具有专一性，一般都比激发光弱，为能观察到专一的荧光，在物镜后面需加阻断（或压制）滤光片。它的作用有两个：一是吸收和阻挡激发光进入目镜，以免干扰荧光和损伤眼睛；二是选择并让特异的荧光透过，表现出专一的荧光色彩。两种滤光片必须配合使用。

1.3.2 正置荧光显微镜使用技术

【仪器名称】

正置荧光显微镜。

【规格型号】

Axioplan 2。

【生产厂家】

德国蔡司有限公司。

【结构】

正置荧光显微镜的结构如图 1-5 所示。

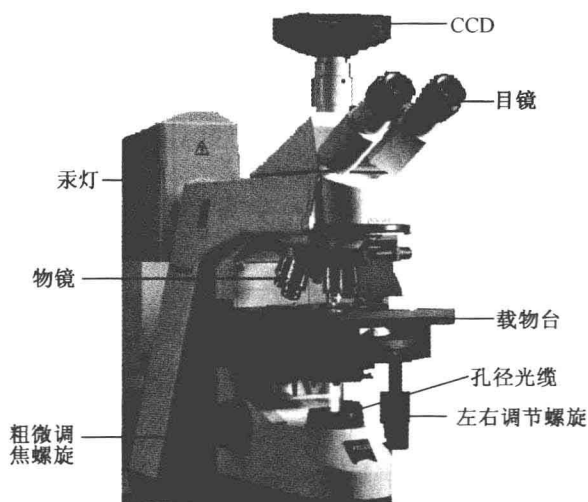


图 1-5 正置荧光显微镜

【操作步骤】

(1) 明视场观察照相。

① 开通电源，调整目镜，将观察的载片放到载物台上（图 1-6A）。

② 选择适当的物镜，调节粗细螺旋及载物台旋杆，通过目镜观察图像（图 1-6B）。

③ 将观察的图像放到视野中心，拉开拉杆，通过电脑软件观察（图 1-6C）。

④ 单击 Live Properties 图标打开实时属性。

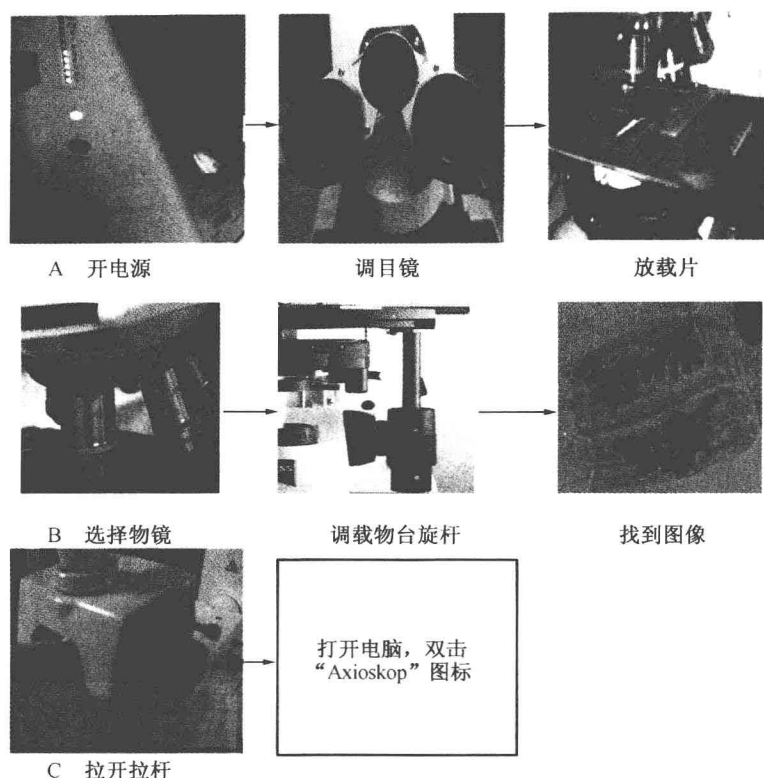


图 1-6 正置荧光显微镜操作

⑤选择曝光时间（点击 Measure 为自动选择曝光时间）。

⑥对图像进行白平衡。用鼠标左键单击 Interactive 按钮，然后在图像中选择背景干净的位置点击一下，电脑会去掉图像背景的噪声。3 200 K是指用3 200 K的滤光片进行自平衡调节，也可指色温达到3 200 K。如果选择自动按钮 Automatic，摄像机将试图自己测定一个最佳值。

⑦拍照。在拍照之前，还要转动微准焦螺旋，观察电脑屏幕上的图像，

调至自己满意为止。单击摄像机图标  以获取图像，或者在 Acquisition 菜单中单击 Snap。

⑧图像属性调整。单击 Show Properties 图标  以激活显

示属性页（图 1-7）。

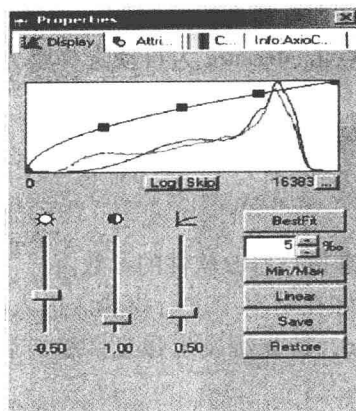
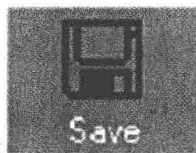


图 1-7 获取图像的属性页

上下移动滑块以调节图像的 Gamma、对比度或亮度。Gamma 值大约为 0.45 时色彩可以在显示器上得到较好重现。单击 Min/Max 以寻找对比度和亮度的最佳设置。单击 Linear 以撤销用户所做的改变。



⑨标尺。单击图标 给图像插入比例尺。注意：必须在照射之前选择使用的物镜。



⑩保存。单击图标 可以保存用户生成的图像到计算机的硬盘上。但这种保存方法获得的图像只能在该软件中打开，为了方便，建议在保存图像时用文件中的输出图方式保存。

(2) 荧光观察照相。

- ①打开汞灯，15 ~ 30 min。
- ②调整目镜，将观察的载片放到载物台上。
- ③选择荧光镜。1 ~ 3 号为荧光镜：1 号为蓝色；2 号为绿色；3 号为紫色；4, 5 号为空位。
- ④选择适当的物镜，调节粗细螺旋及载物台旋杆，通过目镜观察图像。

⑤将观察的图像放到视野中心，拉开拉杆，通过电脑软件观察。

⑥单击 Live Properties 图标打开实时属性。

⑦选择曝光时间（点击 Measure 为自动选择曝光时间）。荧光照相不需要白平衡。

⑧单击“Snap”拍照。

⑨保存。

【注意事项】

(1) 使用过程中不准擅自修改软件的参数。

(2) 观察荧光时最好在暗室中进行检验。进入暗室后，接上电源，点亮超高压汞灯 5 ~ 15 min，待光源发出强光并稳定后，眼睛完全适应暗室，再开始观察标本。

(3) 检查时间以每次 1 ~ 2 h 为宜。如果超过 90 min，超高压汞灯发光强度逐渐下降，荧光减弱；标本受紫外线照射 3 ~ 5 min，标本荧光也明显减弱。所以，检查时间最多不要超过 3 h。

(4) 荧光光源寿命有限，标本应集中检查，以节省时间，保护光源。

(5) 如灯泡关闭后欲再使用，待灯泡充分冷却后才能点亮。一天中应避免数次接通光源。

(6) 标本染色后应立即观察，时间久了荧光会逐渐减弱。若将标本保存在聚乙烯塑料袋中 4 ℃ 保存，可延缓荧光减弱时间。

1.4 倒置显微镜

1.4.1 倒置显微镜原理

倒置显微镜和放大镜起着同样的作用，就是把近处的微小物体成一个放大的像，以供人眼观察。只是显微镜比放大镜具有更高的放大率而已。物体位于物镜前方，离开物镜的距离大于物镜的焦距，但小于 2 倍物镜焦距。所以，它经物镜以后，必然形成一个倒立的放大的实像 $A'B'$ 。 $A'B'$ 靠近 F_2 的位置上。再经目镜放大为虚像 $A''B''$ 后供眼睛观察。目镜的作用与放大镜一样，所不同的只是眼睛通过目镜所看到的不是物体本身，而是物体被物镜所成的已经放大了一次的像。

倒置生物显微镜可以观察生物切片、生物细胞、细菌以及活体组织培养、流质沉淀等，同时也可以观察其他透明或者半透明物体以及粉末、细小颗粒等物体。比较普通的生物显微镜适合用于观察、记录附着于培养皿底部