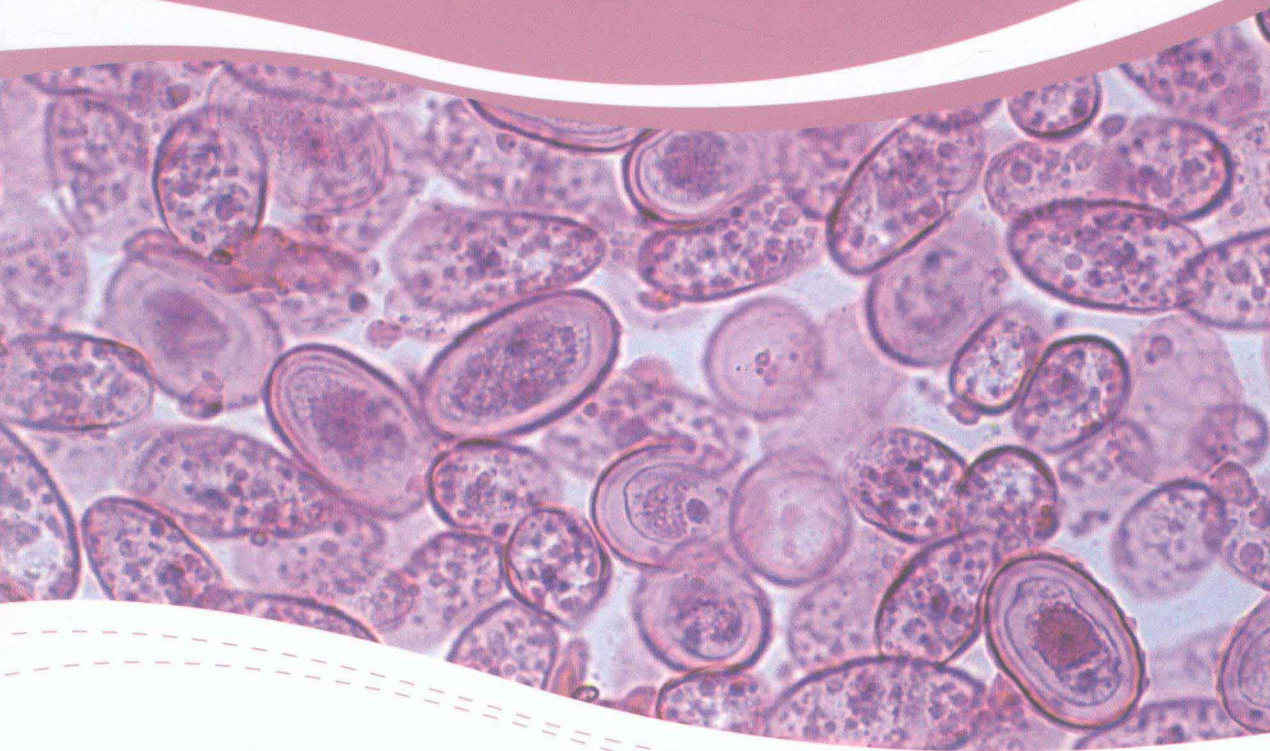


高等农林院校基础生物学系列实验教材

细胞生物学 实验教程

主编 杨洪兵 潘延云

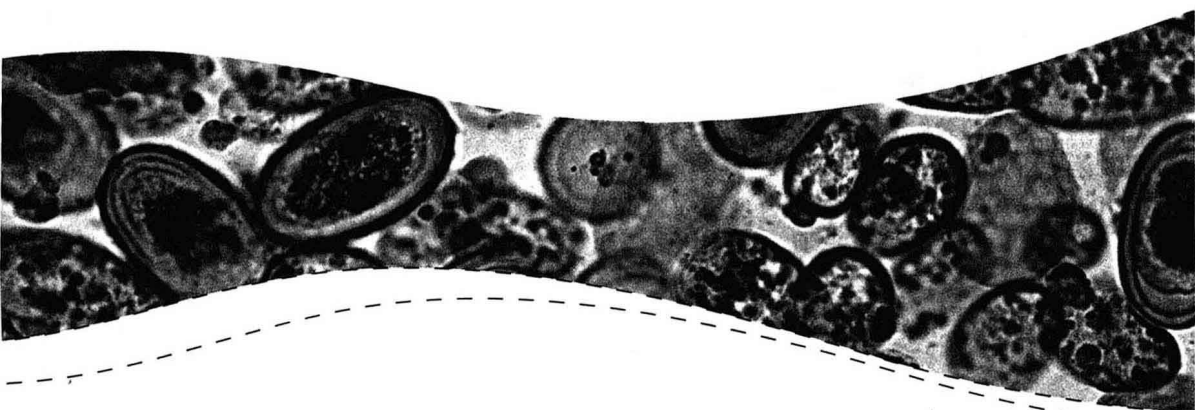


 高等教育出版社
HIGHER EDUCATION PRESS

高等农林院校基础生物学系列实验教材

细胞生物学实验教程

Xibao Shengwuxue Shiyan Jiaocheng



主 编 杨洪兵 潘延云
副主编 李武峰 韩 冰 赵 露
吴立柱 张玉喜 侯丽霞

编 者 (按姓氏笔画为序)

刘迎春	李 桢	李武峰	吴立柱
张玉喜	张艳萍	杨洪兵	周竹青
陈 琰	胡彦江	赵 露	侯名语
侯丽霞	韩 冰	雷万钧	潘延云

主 审 樊廷俊
副 审 宋学雄



高等教育出版社·北京
HIGHER EDUCATION PRESS BEIJING

内容提要

本书是根据高等农林院校教学目标和多年的教学实践编写而成。主要内容包括常用细胞生物学仪器使用与操作技术、细胞形态与结构的观察、细胞膜结构与物质跨膜运输、细胞质基质与细胞内膜系统、叶绿体与线粒体的观察、染色体结构与观察、细胞骨架的观察、细胞培养与分化、细胞衰老与凋亡的检测等，涉及细胞生物学的基本知识和实验技能，使用单位可根据自身教学条件和教学时间选做。

本书可作为高等农林院校的生物、农学、园艺、植保、动科、水养等专业本、专科学生的专业基础课教材，也可作为相关专业研究生、教师和科研人员的参考书。

图书在版编目（CIP）数据

细胞生物学实验教程 / 杨洪兵，潘延云主编. —北京：高等教育出版社，2011.8

ISBN 978-7-04-033145-5

I. ①细… II. ①杨…②潘… III. ①细胞生物学－实验－高等学校－教材 IV. ①Q2-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2011)第130684号

策划编辑 吴雪梅 李光跃 责任编辑 王超然 封面设计 杨立新 责任印制 张福涛

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街 4 号
邮政编码 100120
印 刷 北京七色印务有限公司
开 本 787×1092 1/16
印 张 12.75
字 数 290 000
购书热线 010-58581118

咨询电话 400-810-0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.landraco.com>
<http://www.landraco.com.cn>
版 次 2011 年 8 月第 1 版
印 次 2011 年 8 月第 1 次印刷
定 价 22.80 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题，请到所购图书销售部门联系调换
版权所有 侵权必究
物 料 号 33145-00

高等农林院校基础生物学系列 实验教材编委会

主任委员:刘家尧

副主任委员:郭立忠 王 伟 王冬梅

委 员:(以姓氏笔画为序)

王明友 王晶珊 朱 伟

全先庆 刘 新 刘洪庆

初庆刚 咸洪全 高 玲

海利力·库尔班 薛仁镐

穆 平

► 前 言

细胞生物学是研究细胞的结构、功能、生活史以及各种生命活动本质和规律的科学,是生命科学的四大基础学科之一,是一门实验性很强的学科。细胞生物学实验是细胞生物学教学的重要组成部分,通过细胞生物学实验不但可以了解细胞生物学的基本研究方法,掌握基本的细胞生物学实验操作技能,而且可以加深学生对基础理论知识的理解,提高学生的综合分析能力和培养创新意识。为了适应新世纪高等学校细胞生物学教学改革与发展,特别是我国高等农林院校创新型人才培养的需要,由高等教育出版社组织国内6所高校编写了这本《细胞生物学实验教程》。

本书是根据高等农林院校教学目标和多年的教学实践编写而成。在第1篇简要介绍了常用细胞生物学仪器使用与操作技术,后面各篇按照教学大纲编排了相应的实验内容,便于教师在组织教学过程中选择和安排实验,主要内容包括细胞形态与结构的观察、细胞膜结构与物质跨膜运输、细胞质基质与细胞内膜系统、叶绿体与线粒体的观察、染色体结构与观察、细胞骨架的观察、细胞培养与分化、细胞衰老与凋亡的检测等,涉及细胞生物学的基本知识和实验技能,使用单位可根据自己的教学条件和教学时间选做。

本书是6所高校十几位教师共同努力的结果,参加编写的人员均具有多年从事细胞生物学教学和研究的实践经验,是集体智慧的结晶。实验1、2由青岛农业大学胡彦江编写;实验3、5由河北农业大学侯名语编写;实验4、19、36、44、46由河北农业大学潘延云编写;实验6、7、11由内蒙古农业大学刘迎春编写;实验8、15、20、31、38、40由青岛农业大学杨洪兵编写;实验9、12、13由青岛农业大学张艳萍编写;实验10、21、24、45由吉林农业大学赵露编写;实验14、29、47、48由青岛农业大学侯丽霞编写;实验16、17、18、30、43由内蒙古农业大学韩冰编写;实验22、33、35、37由青岛农业大学张玉喜编写;实验23由河北农业大学陈琰编写;实验25、32由青岛农业大学李楨编写;实验26、27由山西农业大学李武峰

目 录

第1篇 常用细胞生物学仪器使用与操作技术

实验 1	普通光学显微镜构造与使用	2
实验 2	植物组织石蜡切片的制作	6
实验 3	相差显微镜的使用	12
实验 4	荧光显微镜的使用	16
实验 5	免疫荧光技术与应用	20
实验 6	透射电子显微镜与样品制备	25
实验 7	扫描电子显微镜与样品制备	31
实验 8	显微镜放射自显影样品的制备与观察	35
实验 9	流式细胞仪的使用	44
实验 10	细胞电融合技术	47
实验 11	显微摄影技术	51
实验 12	细胞电泳	58
实验 13	细胞计数	62
实验 14	外源基因的导入与表达	65

第2篇 细胞形态与结构的观察

实验 15	细胞形态的观察与细胞显微测量	70
实验 16	口腔黏膜上皮细胞的荧光显微镜观察	73

第3篇 细胞膜结构与物质跨膜运输

实验 17	膜蛋白质的分离	76
实验 18	细胞吞噬运动的观察	81
实验 19	细胞的凝集反应	84



实验 20	胞间连丝的观察与制片技术	87
实验 21	植物原生质体融合与影响因素	90
实验 22	动物细胞的体外融合	93
实验 23	细胞膜的通透性	96

第4篇 细胞质基质与细胞内膜系统

实验 24	细胞中酶的定位与定性研究	100
实验 25	ATP 酶的细胞化学鉴定	102
实验 26	过氧化氢酶的细胞化学鉴定	106
实验 27	过氧化物酶的细胞化学鉴定	109
实验 28	脱氢酶的细胞化学鉴定	112
实验 29	细胞质膜和液泡膜微囊的制备与相关活性测定	115
实验 30	植物细胞中质体的观察与主要储藏物质的检验	119

第5篇 叶绿体与线粒体的观察

实验 31	叶绿体的差速离心分离与观察	124
实验 32	线粒体的超活染色与观察	126
实验 33	细胞器 DNA 的荧光显微镜观察	130

第6篇 染色体结构与观察

实验 34	去壁低渗法制备植物染色体标本	134
实验 35	染色体的吉姆萨 (Giemsa) 分带技术	137
实验 36	果蝇唾腺巨大染色体的制备与观察	139
实验 37	DNA 显示与细胞有丝分裂相的观察	143

第7篇 细胞骨架的观察

实验 38	微丝的光学显微镜观察	148
实验 39	微管的免疫荧光显示	151
实验 40	中间纤维的荧光显微镜观察	154

第8篇 细胞培养与分化

实验 41	动物细胞的原代培养	158
实验 42	植物原生质体的分离与培养	161

实验 43	不定根发生的细胞生理学研究	164
实验 44	生长曲线的测定	169
实验 45	常用的药物诱导细胞同步化方法	172

第 9 篇 细胞衰老与凋亡的检测

实验 46	类坏死的处理与死、活细胞鉴别	176
实验 47	细胞衰老的诱导与检测	179
实验 48	逆境胁迫导致的细胞凋亡与检测	182

附 录

I	实验报告范文	186
II	研究性实验报告范文	188

第 1 篇

常用细胞生物学 仪器使用与操作技术

实验 I

普通光学显微镜构造与使用

【实验背景】

显微镜是观察微观世界的重要工具,它把一个全新的世界展现在人们的视野里,在许多方面都得到了应用。1665年,罗伯特·虎克用自己制造的显微镜观察植物组织,发现了细胞。显微镜的发明,使人们开始更深刻地揭示了自然界的奥秘,推动了各学科特别是生物学的发展;另一方面,诸多科学的发展又促进了显微镜技术的改进,显微镜的构造不断得到完善,其工作原理越来越先进。显微镜可分为光学显微镜和电子显微镜两大类。光学显微镜通常分为单式显微镜和复式显微镜两种类型,它以自然光或灯光为光源,最大可将物体放大一千多倍。电子显微镜是用电子束作为光源,它可将物体放大一百多万倍。随着科学的发展和研究的深入,又出现了许多类型的研究用显微镜,如明场显微镜、暗场显微镜、偏光显微镜、相衬显微镜、倒置显微镜、荧光显微镜和扫描电子显微镜等。显微镜已被广泛应用于各科学领域,对微观世界的探索具有极其重要的作用。

【实验目的】

1. 了解普通光学显微镜的构造和各部分的作用。
2. 掌握普通光学显微镜的使用方法和保养措施。

【实验原理】

普通光学显微镜的基本构造可分为光学系统、光源照明系统和机械装置3部分。下面以 NIKON YS100 型显微镜(图 1-1)为例介绍普通光学显微镜的主要构造。

1. 镜座

显微镜的底座,用以固定显微镜。电光源显微镜的镜座多为方形,其内部装有电光源系统。底座侧面装有电源开关和光源亮度调节钮,可根据不同需要选择合适的亮度。底座后面通常装有电源插座及保险(丝)管,也有将保险管装在底部的。

2. 镜柱

连在镜座上的短柱,上连镜臂,起支架作用。

3. 镜臂

显微镜中的支架弯臂,是取显微镜时手握的地方。

4. 载物台

方形平台,供放切片用;中央有一圆孔,以通光线;其上有标本夹和推动器,以固定和移动切片。

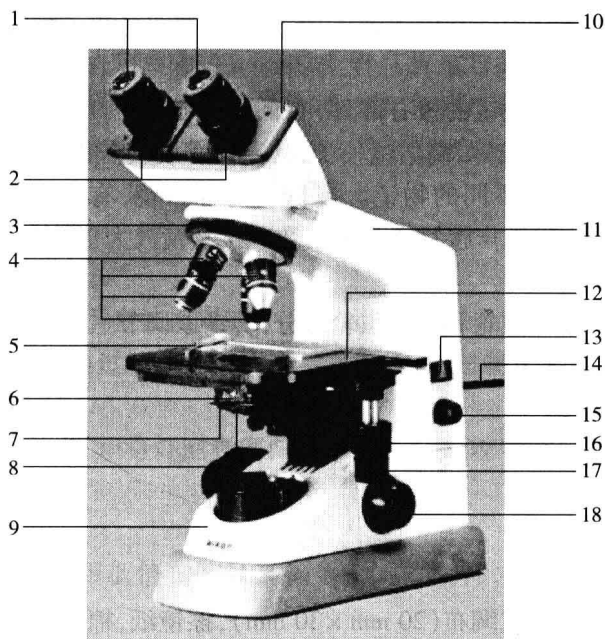


图 1-1 NIKON YS100 型显微镜

1. 目镜; 2. 屈光度调节环; 3. 物镜转换器; 4. 物镜; 5. 标本夹; 6. 放大倍数指示圈; 7. 聚光器孔径光阑调节杆; 8. 蓝滤色片和滤色片固定盘; 9. 场镜座; 10. 目镜筒; 11. 镜臂; 12. 载物台; 13. 电源开关; 14. 电源线; 15. 亮度调节钮; 16. 载物台纵向移动手轮; 17. 载物台横向移动手轮; 18. 微调焦轮

5. 聚光器

又叫集光器,安装在载物台下面,由聚光镜和可变光阑两个部件组成,用以汇聚从场镜来的光线。转动聚光镜调节轮可使聚光镜上下移动,以调节光线强弱。可变光阑又叫虹彩光圈或孔径光阑,装在聚光镜的下方,由十几块金属薄片组成。中央通光孔为圆形,移动聚光器孔径光阑调节杆,可以任意调节通光孔的大小。改变聚光镜的孔径角,以配合接物镜的数值孔径。聚光镜的下方还安装有一个放置滤光片的圆环形架子。滤光片的作用在光线较强时尤为突出。

6. 场镜座

装于镜座上,内置反光镜,将光源来的光反射给聚光器。

7. 镜筒

又叫目镜头,连接在镜臂上,其上接目镜。

8. 物镜转换器

物镜转换器装于镜臂前端,用来安装和转换物镜。根据安装物镜的不同孔数,可分为两孔式、三孔式、四孔式等几种,以四孔式居多。物镜转换器由上、下两块凸面朝下的圆盘组成,上面一块固定在镜筒的下端,称为固定盘,里面装有定位弹簧片;下面一块可以绕其中心的大头螺钉旋转,称为转动盘。物镜就分别安装在转动盘的几个对称的螺丝口上。当转动盘旋转至某一位置时,定位弹簧片上的凸棱落入定位槽中,发出“咔嗒”一声,便有一个物镜进入光路,表示物镜位置已对好。同轴和齐焦是对物镜转换器精度的两点要求。同轴是指每个物镜被定位即调入光路后,物镜和目镜的光轴应在一条直线上;齐焦是指用低倍

- (2) 不能私自拆卸显微镜部件,严禁在显微镜之间调换镜头或其他附件。
- (3) 显微镜出现故障时须与实验老师联系,并认真填写仪器使用记录本。
- (4) 接物镜和接目镜的镜头部分有污物时,须用擦镜纸轻轻擦拭。如镜头上沾有不易直接擦去的污物时,可用棉棒蘸少许擦镜液擦拭,再用擦镜纸擦拭干净。
- (5) 用显微镜观察时,必须先从低倍物镜开始。
- (6) 观察临时装片时,必须加盖玻片,并擦干盖玻片上面及其四周的水,以防损坏物镜。
- (7) 禁止在高倍物镜下直接换置玻片,以防损坏标本或镜头。
- (8) 换用物镜时,应通过转动物镜转换器来操作,通过物镜转动物镜转换器可能会损坏物镜。
- (9) 关闭电源开关前,须将灯泡亮度调节钮旋至灯光较暗的位置,以延长灯泡的使用寿命。

3. 练习

按照上述方法反复使用低倍物镜及高倍物镜观察切片,以达到能正确和熟练使用显微镜。

【思考题】

1. 使用和保养光学显微镜时应注意哪些事项?
2. 为什么不能直接用高倍物镜寻找标本?

【参考文献】

1. 李景原. 植物学实验指导. 长春:吉林大学出版社,2001.
2. 叶创兴,冯虎元. 植物学实验指导. 北京:清华大学出版社,2006.

(胡彦江)

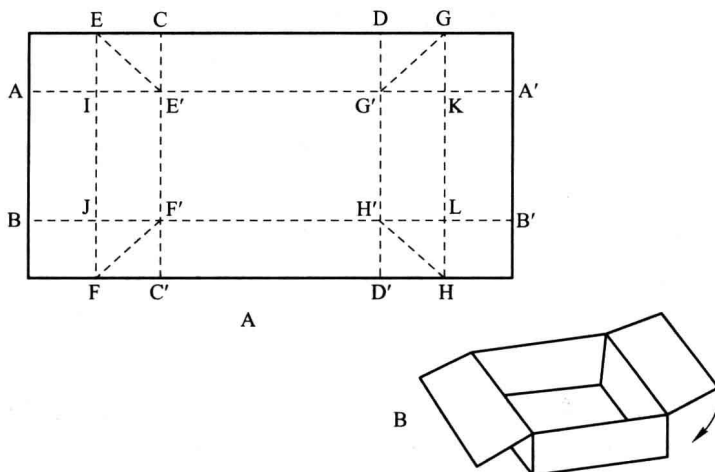


图2-1 纸盒折法示意图(引自郑国锷,1979)

按照A虚线所示先折AA'及BB',再折CC'及DD',将CE'与AE'折痕相叠,向外夹出EE',同样折出FF',GG'及HH',再使△E'CE与△E'IE两三角形相叠,并沿E'C和EI重叠的折痕向后转折,依法同样折其余三只角,使EIJF和GKLH向外,即折成所需的纸盒(B)

6. 切片

包埋好的蜡块在进行切片前,还须进行修块和固着。

用美工刀将蜡块四周修平,使上下两面修成平行面,材料与这两个面垂直,一般材料组织周围附着宽2~3 mm的石蜡,修好的蜡块呈长方体或下半部呈四棱锥体,还可削去一角以便于在蜡带上识别切片。修好的蜡块用加热的美工刀固着在小木块上,使蜡块易见材料的一面朝外,便于以后迅速切出所需的切片。

石蜡法切片使用转动切片机。切片时,把切片刀和刀架装好,再把木块夹在固着装置上,调整固着装置,使材料的切面与切片刀口平行,材料的纵轴必须与刀口垂直,否则切片不正;调整厚度标志器,使所指刻度适合所需厚度(通常8 μm左右),然后左手持毛笔,右手转动切片机进行切片。由于切片时摩擦生热,使切下的蜡片粘成一条蜡带,左手拿毛笔把蜡带轻轻托住,右手不断摇切片机,便可得到连续的切片。待蜡带达到一定长度后,右手停止转动,持另一支毛笔轻轻将蜡带托起,平放于衬有黑油光纸的搪瓷盘内。注意切片速度不宜太快,摇动转轮时用力应均匀,防止切片机震动厉害引起切片厚薄不均匀;还应注意转动的方向,以防标本台后移而切不到蜡块。切片完毕,应及时将切片机的相关部分擦净。

切片时有时不能切成连续蜡带或蜡片卷曲、蜡带不直,或出现其他现象等。这可能由于下列各种原因造成的,所以,事先要注意并及时纠正。

(1) 首先要求有锋利的切片刀,切片刀口不锋利是不能切成连续蜡带的主要原因。

(2) 蜡块平面没有调整到与刀口平行,或刀刃与蜡块平面的角度不正确,也会妨碍蜡带的连续。切片刀放置角度不正确时可调整切片刀固着器,改变刀口与蜡块的角度,一般15~30°左右较合适。

(3) 蜡带上有材料处出现空洞,是由于石蜡未完全浸入材料造成的,应该重新进行浸蜡。

(4) 石蜡太软(熔点较低)或切片时温度过高,往往使蜡带皱缩。这种现象在夏天常

出来。

10. 封藏

封藏时要用封藏剂。封藏剂必须是能与透明剂互溶、对染色无影响、折射率近似玻璃和具有黏性的物质。常用的封藏剂有加拿大树胶和中性树胶。封藏后的切片能够长时间保存。

封片的方法:将载玻片从二甲苯中取出后,吸去多余的二甲苯。在标本上的二甲苯尚未干透之前加数滴中性树胶,仔细盖上盖玻片,避免产生气泡,也不得拖动盖玻片,以免将标本破坏。树胶量视盖玻片大小而定,勿使用过多或过少,以盖上盖玻片后其四周没有溢出树胶为佳。然后镜检结果,室温下放置3~5 d即可。贴上标签,注明切片名称及作者姓名,至此完成切片的制作。

【作业】

每位同学上交5~10张自制的玉米叶片横切永久制片。

【思考题】

1. 徒手切片法和石蜡切片法的主要利弊有哪些?
2. 卡诺氏固定液与FAA固定液对材料的固定方面有什么不同?

【参考文献】

1. 李正理. 植物切片技术. 北京:科学出版社,1978.
2. 路金才. 药用植物学实验. 北京:中国医药科技出版社,2006.

【溶液配制】

FAA 固定液

90 mL 70 % 乙醇,5 mL 冰醋酸,5 mL 甲醛,混匀。

(胡彦江)

实验 3

相差显微镜的使用

【实验背景】

相差显微镜(phase-contrast microscope)是由 Zernike 于 1932 年发明的。它最大的优点就是可以用来观察未经固定和染色的活细胞。普通光学显微镜由于其构造的限制,难以辨清活体的结构,必须借助于固定和染色等理化方法,使样品和背景的反射光或透射光在波长和振幅上发生变化,即在颜色和亮度上有所差异,方可加以识别。染色对活体有害,导致观察结果失真,不能满足细胞生物学工作者对活细胞及细胞内某些细微结构的研究;而相差显微镜可对透明活体直接进行观察,显示其在生物学上的重要应用价值。

【实验目的】

掌握相差显微镜的原理、构造及其使用方法。

【实验原理】

相差是指同一光线经过折射率不同的介质,其相位发生变化并产生的差异。相位是指在某一时间上,光的波动所达到的位置。一般由于被检物体(如不染色的细胞)所能产生相差的差别太小,我们的眼睛是很难分辨出这种差别的。只有在将相差变为振幅差(明暗差别)之后,才能被分辨。

相差显微镜由于其特殊的构造,可将相差变为振幅差(明暗差别),所以能观察未经染色的活细胞。其不同于普通光学显微镜的装置主要有 4 种必不可缺的部件:相差物镜、转盘聚光器、合轴调中望远镜和绿色滤色镜。

相差物镜(phase contrast objective)是相差显微镜特有的重要装置。在相差物镜内的后焦面上装有种类不同的相板(图 3-1)。相板可造成视场中被检样品影像与背景不同的明暗反差,不同相板具有不同的效果。因相差物镜内相板种类或构成不同,相差物镜在明暗反差上可区分为两大类,即明反差(B)或负反差(N)物镜和暗反差(D)或正反差(P)物镜。物镜的反差类别,用英文字母 B 或 N 和 D 或 P 标在相差物镜外壳上,并兼有高(H, high)、中(M, medium)和低(L, low)等 3 种不同程度的反差。同一反差类别的物镜,依照放大率不同,又可分为

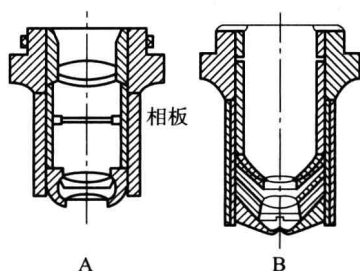


图 3-1 相差物镜剖面构造示意图

- A. 低放大率干燥系相差物镜;
- B. 高放大率油浸系相差物镜

10 $\times$ 、20 $\times$ 、40 $\times$ 和100 $\times$ 数种,因此,相差物镜种类颇多,一套可多达20余种。

转盘聚光器(turret condenser)位于镜台下面,普通聚光器由聚光镜和环状光阑(annular diaphragm)构成。环状光阑位于聚光镜下面,是一种特殊的光阑装置,由大小不同的环状通光孔构成,不同规格的通光孔(环状光阑)装配在一个可旋转的转盘上,按需要调转使用(图3-2)。环状光阑的环宽与直径各不相同,与不同放大率相差物镜内的相板相匹配,不可乱用。转盘前端朝向使用者一面有标示孔(窗),转盘上的不同部位标有0、1、2、3、4或0、10、20、40、100字样,通过标示孔显现。“0”表示非相差明视场的普通光阑。1或10、2或20、3或40、4或100,表示与相应放大率相差物镜相匹配的不同规格环状光阑标志。通过手动转入标示孔内的数字,表示该数字所代表的环状光阑已进入光路。

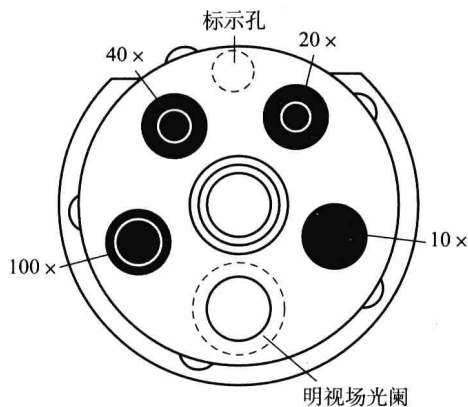


图3-2 转盘聚光器构造示意图

合轴调中望远镜(centering telescope)简称CT,又名合轴调中目镜。它是具有较长焦距的一种望远目镜,镜筒较长,且可运行升降调节,其直径与观察目镜相同。其功能仅作为环状光阑的环孔(亮环)与相差物镜相板的共轭面环孔(暗环)的调中合轴与调焦之用。

相差物镜的种类,从色差消除情况来分,多属消色差物镜(achromatic objective)或PL物镜。消色差物镜最佳清晰范围的光谱区为510~630 nm。欲提高相差显微镜的性能最好以波长范围小的单色光照明,即接物镜最佳清晰波长范围的光线进行照明;所以,使用相差物镜时,在光路上加用透射光线波长为500~600 nm左右的绿色滤色镜(green filter),使照明光线中的红光和蓝光被吸收,只透过绿光,可提高物镜的分辨能力。该滤色镜有吸热作用,利于活体观察。

相差显微镜由于具有上述特殊构造,其成像原理也有别于普通光学显微镜。镜检时光源只能通过环状光阑的透明环,经聚光器后聚成光束,这束光线通过被检物体时,因各部分的光程不同,光线发生不同程度的偏斜(衍射)。由于透明圆环所成的像恰好落在物镜后焦平面上,与相板上的共轭面重合。因此,未发生偏斜的直射光便通过共轭面,而发生偏斜的衍射光则经补偿面通过。由于相板上共轭面和补偿面的性质不同,通过这两部分的光线会产生一定的相位差和强度的变化,两组光线再经后透镜的汇聚,又复在同一光路上行进,从而使直射光和衍射光产生光的干涉和叠加,变相位差为振幅差(图3-3)。这样在相差显微镜镜检时,将通过无色透明体的光线即人眼不可分辨的相位差转化为人眼

可以分辨的振幅差(明暗差)。

【实验用品】

相差显微镜,制片样品。

【方法与步骤】

1. 相差装置的安装

相差显微镜区别于普通光学显微镜的装置主要有相差物镜、转盘聚光器、合轴调中望远镜和绿色滤色镜4种部件。使用时,将这些部件调换安装在同型号的普通光学显微镜上,即成为相差显微镜。

2. 聚光器合轴调中

转盘聚光器调换安装后,要进行合轴调中,使聚光器的光轴与显微镜的主光轴合一。其步骤如下:

(1) 转盘聚光器环状光阑调至“0”位,使明视场照明用的普通可变光阑进入光路。

(2) 旋转聚光器升降旋钮,将聚光器升至最高位。

(3) 接通照明光源。

(4) 用低倍($4\times$)物镜聚焦观察被检样品。

(5) 将镜座上的视场光阑开孔调至最小,在暗视场中可见一缩小的、明亮的、多角形的视场光阑图像。

(6) 调节聚光器,将视场中明亮的多角形视场光阑图像调至视场中央。

(7) 开放视场光阑至视场同大,使两者周边完全重合,即聚光器精确调中。

3. 相板圆环与环状光阑圆环的合轴调中

物镜放大率与反差效果不同,相板圆环(共轭面)的大小与构造亦不同。转盘聚光器的环状光阑为一系列透光的、不同大小的明亮环孔。在视场中,环状光阑为一明亮圆环,相板的圆环为一暗环。当明环与暗环相互重叠一致时,方可观察样本。两环的重叠需通过合轴调节完成,具体步骤如下:

(1) 选择相匹配的相差物镜与环状光阑,例如,当使用 $40\times$ 相差物镜时,环状光阑应转向ph3或40位,使相应的环状光阑进入光路。

(2) 利用调中合轴望远镜(CT)聚焦明环与暗环:一手固定位于目镜筒中的CT镜筒,使其场透镜位置不能上移;一手逆时针转动CT上部可调的眼透镜部分。转动的同时,通过CT观察视场中两环图像,至清晰地观察到明环与暗环为止。

(3) 明环与暗环的调中重叠:相板暗环是固定不动的,处于光路之中暗环的中心,即显

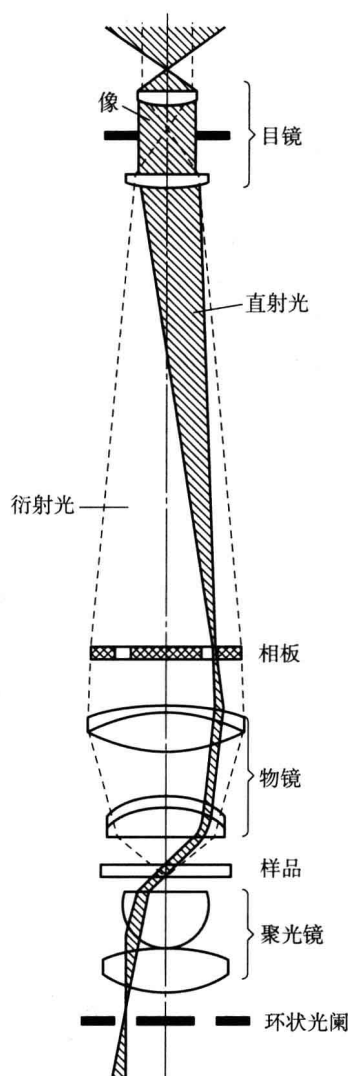


图3-3 相差显微镜构造及光路示意图