

细胞生物学实验指南 (第2版)

EXPERIMENTS IN CELL BIOLOGY: A STUDENT'S GUIDE



主编 丁明孝 苏都莫日根 王喜忠 邹方东

细胞生物学实验指南

GUIDEBOOK OF CELL BIOLOGY EXPERIMENT

THE FIRST EDITION THE ONE

● 细胞生物学

细胞生物学实验指南 (第2版)

X I B A O S H E N G W U X U E S H I Y A N Z H I N A N

主编 丁明孝 苏都莫日根 王喜忠 邹方东

编者 北京大学	苏都莫日根	丁明孝	王世强
四川大学	邹方东	李虹	杨军
清华大学	王宏英	张贵友	王喜忠
北京师范大学	张伟	桑建利	
复旦大学	郭滨		
上海交通大学	曹阳	秦敏君	
浙江大学	严庆丰		
武汉大学	刘江东		
东北师范大学	曾宪录		
华南农业大学	孙京臣		
首都师范大学	印莉萍		
淮南师范学院	王顺昌		
中山大学	何键		

内容提要

本实验教材分3个部分,共编写了36个实验,分属17个主题。第一部分“显微镜的使用”,强调掌握显微镜的调试和使用的基本技能,了解各种不同的光学显微镜及电子显微镜的基本原理、特点和应用范围。第二部分“基本实验技术”,侧重于细胞组分的原位定性分析、细胞组分离分析、细胞培养、细胞融合、细胞转染和细胞分选与分析技术等实验内容。第三部分“细胞的结构、功能与生命活动”,在一定程度上验证细胞生物学理论授课的某些内容,但更多的是侧重培养学生分析与解决问题的能力,掌握科学的研究方法。

本书由来自全国13所高等院校的21位富有实验教学经验的教师共同编写完成。编写中以培养学生创新性思维与实践动手能力为主要宗旨,在实验课教学内容上做了较多改进,强调实验的可操作性,供各高校根据自身教学资源条件和实验教学时间进行自主选择。

本书配套建有数字课程网站,网站内容包括实验教材中每一个实验的实验准备要点、实验设计思路及课堂授课要点、实验结果与讨论、思考题的参考答案要点、参考文献等,还有部分实验教学的PPT课件。

本书适合作为高等院校生命科学类专业细胞生物学基础实验课程的教材使用,也可供相关科研及实验技术人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

细胞生物学实验指南/丁明孝等主编. --2版. --
北京:高等教育出版社,2013.1
ISBN 978-7-04-035525-3

I. ①细… II. ①丁… III. ①细胞生物学-实验-高等学校-教学参考资料 IV. ①Q2-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2013)第001472号

策划编辑 王莉
责任绘图 尹莉

责任编辑 王莉
版式设计 范晓红

封面设计 张楠
责任印制 赵义民

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 大厂益利印刷有限公司
开本 787mm×1092mm 1/16
印张 11.75
字数 270 000
彩插 4
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.landaco.com>
<http://www.landaco.com.cn>
版次 2009年6月第1版
2013年1月第2版
印次 2013年1月第1次印刷
定价 23.00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 35525-00

前 言

自第1版《细胞生物学实验指南》(以下简称《指南》)出版以来,得到来自全国各类高校不少同行的选用和参考,普遍认为该《指南》适应细胞生物学快速发展,对更新实验内容、促进学生“知识、能力和素质”全面协调发展具有积极意义。在使用过程中,参编作者也不断汲取读者反馈意见,并研讨在内容取舍等方面存在的不足和问题,以期在该版修订中予以改正、补充和完善。而对于如何更新实验教学内容,提高实验课教学质量,教师们都在不断探索并为之付出很大的努力。然而,有些问题不是仅靠教师努力所能解决的,还受到实验材料的来源、实验教学资源(师资、场所、设备和经费)等方面的制约。尽管如此,教师的教学指导思想依然是实验教学的主导因素,我们希望该《指南》对广大同行提高细胞生物学实验教学质量有所帮助。

一、指导思想

培养学生创新性思维与实践动手能力,是实验课教学的主要宗旨之一。实验课教学不仅有助于帮助学生了解和掌握实验技能,培养学生科学的工作态度,也有利于加强学生科学道德修养,培养学生的合作精神。我们期望通过实验课教学,帮助学生树立相关的科学研究的基本理念:如何批判性地读书与阅读文献;如何设计实验,特别是对照实验;如何进行实验的风险评估并采取相应的对策;如何在实验过程中发现问题、解决问题;如何做好实验记录、分析结果;如何写实验报告(科研论文)等,这也是培养学生创新能力的基本途径。相关的内容建议大家读一读纽约大学孙同天教授的一篇文章(*Nature Review/Molecular Cell Biology*, 5:577-581, 2004)。

目前,细胞生物学实验课的难点是,能否在有限的学时、有限的经费和有限的仪器设备条件下,实现上述实验课的教学宗旨。为此,我们在第2版《指南》修订时,除继续保留在每个实验的前面都撰写或修订了“背景与原理”,并推荐了相关的阅读文献外,对实验教学内容又做了增减、取舍和改进,目的是为了扩展学生的科学视野,激发学生能够以小见大、举一反三。同时,以期促进教师从培养学生掌握科学研究方法和树立科学态度的角度去思考、探索和实践,把实验课开得更好。

二、主要内容及修订

针对细胞生物学学科的特点和与其他学科的关系,以及为了加强实验的可操作性和多样性选择,第2版《指南》的教学内容及其修订如下:

主要实验内容仍然由“显微镜的使用”、“基本实验技术”和“细胞的结构、功能与生命活动”三部分组成。每部分的教学重点各有侧重,目的是使学生在仪器的使用、实验技能的掌握以及科学问题的分析与解决等方面得到较为系统的培养和训练,从而为大学本科生后继综合及创新性实验以及研究生培养打下扎实的基础。

第一部分“显微镜的使用” 显微镜的使用是细胞生物学研究的基本实验手段。通过实验课掌握显微镜的调试和使用的基本技能,了解各种不同的光学显微镜及电子显微镜的基本原理、特点和应用范围,强调仪器调试在仪器使用中的重要性。这部分内容是细胞生物学

最具学科特点、又广泛用于其他学科领域的实验内容,是本书的重点内容。这部分内容包括4个实验和3个相关的附录。

第二部分“基本实验技术” 广义的细胞生物学技术,是指用来解决细胞生物学问题的技术。可以说当今的生命科学中几乎没有什么科学问题与细胞和细胞生物学无关。因此,考虑到本学科的特点,将基本实验技术侧重于细胞组分的原位定性分析、细胞组分分离分析、细胞培养、细胞融合、细胞转染、细胞分选与分析技术等实验内容,侧重培养学生了解和应用实验技术的技能与技巧。这部分包括13个基础实验和拓展实验以及2个相关的附录。

第三部分“细胞的结构、功能与生命活动” 希望能在一定程度上验证细胞生物学理论授课的某些内容,但更多的是培养学生分析与解决问题的能力,掌握科学的研究方法,培养正确的科学态度。这部分实验内容共包括6个实验主题,每个主题分别列出若干具体实验选项,目的是便于各校根据实际情况选择,以增加实验的选择多样性,同时也有利于实验的可操作性。

实现上述教学宗旨,实验内容的编写是最重要的一环。修订版在整体实验安排和具体实验内容上作出了较大的改进。力求在继承经典实验的基础上,融进现代细胞生物学的内容,并增加部分新的实验,使之成为极具特点和实用性较强的实验教材。

三、本书的使用

为了便于学生和教师对本书的使用,我们在《指南》中,将总共36个基础实验和拓展实验、5个附录分别纳入不同的相关主题,各高校可根据自身教学资源条件和实验课学时进行自主选择。《指南》中向学生推荐的阅读文献,是希望学生在课前或课中选择性阅读。文献阅读至关重要,只有大量阅读文献才能发现问题、提出问题和设计实验,找出解决问题的办法。对于一个具体实验来讲,将文献阅读、实验“背景与原理”的了解和实验操作结合起来,有助于引导学生从单个实验入手,在相关的大背景下考虑问题,提出问题,激发学生主动获取知识的兴趣,引导学生“认真操作、积极思考、增长才干”,逐渐进入解决实际科学问题的大门。《指南》中的思考题是为学生提供更多的思考问题和讨论问题的空间。除了按常规实验报告要求撰写外,教师不妨选个别实验要求学生以学术论文的格式和要求撰写实验报告,以了解学术论文撰写格式、层次及语言特点。

为了方便教师和学生使用,更为了共同切磋,本书配套建设有数字课程网站,网站内容包括实验教材中每一个实验的实验准备要点、实验设计思路及课堂授课要点、实验结果与讨论、思考题的参考答案要点、参考文献等,还有部分实验教学的PPT课件。此外,我们还专门录制了动物细胞原代与传代培养、细胞冻存与复苏技术,电子显微镜的结构、应用及超薄切片技术,普通光学显微镜和荧光显微镜技术等录像短片,用于课堂教学的示范或拓展实验。此外,书中各实验还注有各位编者的电子信箱,欢迎大家在实验材料(如线虫、斑马鱼、四膜虫、拟南芥等)的获取、实验试剂的选择和具体实验操作等方面与编者进行交流。

本书是由来自全国13所高等院校的21位富有实验教学经验的教师共同编写完成的。在编写过程中,大家共同讨论、相互交流、群策群力,有时甚至很难确定某一实验的具体撰稿人。特别是上海交通大学曹阳老师在录像短片的编导、拍摄和后期制作中付出了大量的艰苦劳动。录像短片的拍摄还得到了浙江大学、北京师范大学、复旦大学、武汉大学生命科学院的大力支持。感谢乔守怡老师对本书的关切和具体指导。刘春香老师在编写中做了大量的组织工作。

在修订该《指南》的过程中,我们力所能及地进行了一些有益的探索和尝试,但由于能力所限和一些客观原因,本书尚有很多不尽如人意之处,恳切地希望大家在使用本实验教材过程中,提出宝贵的意见。我们也打算再花几年的时间,通过共同实践和积累,使这本实验教材能更好地适应细胞生物学的学科发展和高校创新型人才培养的需要。

丁明孝 王喜忠

2012年8月

目 录

第一部分 显微镜的使用

- 实验 1 普通光学显微镜的基本使用方法 3
附录：石蜡切片、冷冻切片和苏木精 - 伊红染色法 9
- 实验 2 相差、干涉差、暗视野显微镜的基本使用方法 13
- 实验 3 荧光显微镜的基本使用方法 19
附录：激光扫描共聚焦显微镜的基本原理和应用简介 26
- 实验 4 电子显微镜负染色技术 29
附录：电子显微镜超薄切片技术 33

第二部分 基本实验技术

- 实验 5 细胞化学 41
I. 福尔根染色 41
II. 酸性磷酸酶的检测 45
III. 碱性磷酸酶的检测 48
- 实验 6 免疫标记与核酸原位杂交 53
I. 免疫酶标法检测细胞骨架蛋白 54
II. 免疫荧光标记法检测细胞中的微管蛋白 56
* III. 核酸原位杂交实验 59
- 实验 7 细胞器的分离、纯化和鉴定 65
I. 差速离心法分离线粒体 65
II. 密度梯度离心法分离叶绿体 69
III. 细胞核的制备 71
- 实验 8 细胞融合:植物原生质体制备与融合 75
- 实验 9 动物细胞培养 79

II 目 录

附录 1: 培养细胞的冻存与复苏 83

附录 2: 无菌操作技术要领 84

* 实验 10 细胞转染 86

* 实验 11 细胞分选与分析——流式细胞仪的使用 90

第三部分 细胞的结构、功能与生命活动

实验 12 细胞质膜及其特化结构 99

I. 细胞质膜的通透性与水孔蛋白通透效应的观察 99

II. 四膜虫纤毛的再生 102

III. 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬作用的观察 105

* IV. 植物细胞胞吞作用及内膜系统动态变化的荧光显微镜观察 108

实验 13 细胞骨架 112

I. 免疫荧光标记法观察细胞中微管的分布 112

II. 鬼笔环肽标记法观察细胞中微丝的分布 115

III. 黑藻细胞的胞质环流 118

IV. 细胞骨架的立体镜观察 122

实验 14 细胞周期 126

I. 小鼠 M 期染色体的制备与观察 126

II. S 期细胞的检测 130

III. 线虫胚胎细胞有丝分裂的观察 132

实验 15 细胞分化 138

I. 植物细胞的脱分化与再分化 138

II. 血细胞的分化和不同类型血细胞的观察 141

实验 16 细胞凋亡与细胞衰老 146

I. 细胞凋亡的诱导与检测 146

II. 植物细胞程序性死亡的诱导与形态观察 150

III. 秀丽隐杆线虫生殖细胞的细胞凋亡检测 152

* IV. 细胞衰老的诱导及 β -半乳糖苷酶的检测 156

* 实验 17 细胞信号转导 160

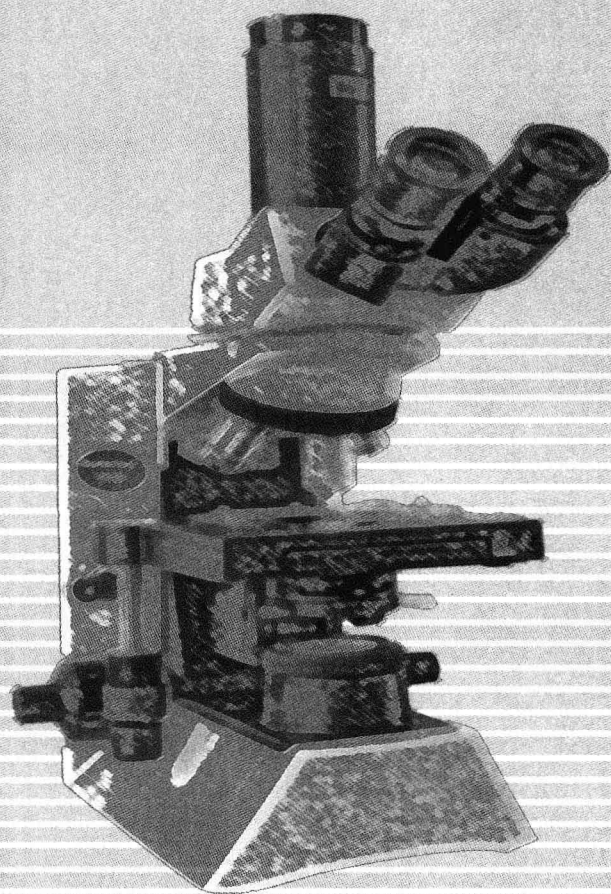
I. G 蛋白耦联受体信号通路与心肌细胞的收缩 160

II. TGF- β 对斑马鱼胚胎发育的影响 165

附录 实验材料及其培养	169
一、四膜虫	169
二、黑藻	170
三、斑马鱼	171
四、秀丽隐杆线虫	173
五、小鼠	175
六、拟南芥	177

第一部分

显微镜的使用



实验 1 普通光学显微镜的基本使用方法

一、背景与原理

光学显微镜(optical microscope)是利用光学原理把人眼所不能分辨的微小物体放大成像,以供人们提取微细结构信息的光学仪器,是在细胞和组织水平上观察并记录生物学现象时最常用的实验设备。绝大多数的生命科学研究需要使用显微镜。近些年,随着产自不同国家、具有先进性能的各种新型显微镜不断装备着实验室,教学和科研中的显微观察条件得到了普遍的改善。然而,要得到完美的显微观察结果并非易事。大多数显微照片仍不同程度地存在视野光不均匀、反差层次欠理想、清晰度不够等缺陷。这些缺陷显然会影响显微图像的质量和实验结果的可靠性。

在绝大多数情况下,出现类似缺陷的原因并不是显微镜的质量和性能问题,而是我们忽略了显微镜操作的一些细节造成的。只要掌握了光学显微镜的基本调节方法并在使用显微镜时形成良好的习惯,就可以有效地克服上面的问题,最大限度地发挥各种新型显微镜的优越性能。

显微镜是一种利用透镜成像原理将实物放大成像的光学装置。其基本的成像原理如图 1-1。我们在显微镜里所看到的是样品放大的虚像。最早的显微镜结构很简单,即由目镜和物镜两块透镜构成。现代的显微镜虽然基本的成像原理不变,但镜体中包含了很多的先进技术。这些技术的应用大大地提高了显微镜的解像度和观察舒适性。

本实验着重讲解柯勒(Köhler)照明的调节和孔径光阑的使用。要求学生通过观察效果的对比,切实体验光路、柯勒照明和孔径光阑的调节对观察效果的影响,做到不仅看得见,而且要看到最佳效果。

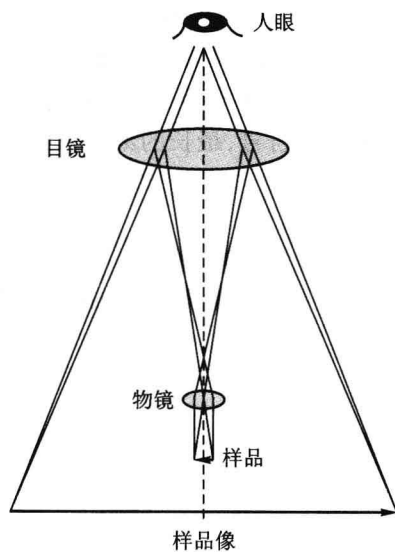


图 1-1 显微镜的基本成像原理

二、实验目的

1. 了解普通光学显微镜的构造原理、使用方法和维护方法;
2. 熟练掌握普通光学显微镜的使用和显微镜的合轴。

三、教学安排

实验时间 2~3 学时。本实验强调规范使用和调试普通显微镜,这是细胞生物学实验非常重要的内容,是获得好的实验结果的基础。在熟练掌握显微镜的使用后,再安排 2~3 人一组进行合轴的训练。

四、实验材料、仪器与试剂

实验仪器

普通光学显微镜,擦镜纸,待观察的标本片,载玻片,盖玻片,镊子,吸水纸等。

五、实验方法与步骤

1. 显微镜的主要结构

普通光学显微镜的构造主要分为 3 部分:机械部分、照明部分和光学部分(图 1-2)。机械部分包括:镜座、镜体、镜臂、镜筒、物镜转换器(旋转器)、镜台(载物台)和调焦旋钮等。调焦旋钮是装在镜体上的大小两种螺旋,调节时使镜台上下移动,包括粗调节器(粗螺旋)和细调节器(细螺旋)。细调节器移动时可使镜台缓慢地升降,多在运用高倍镜时使用,从而得到更清晰的物像,并借以观察标本的不同层次和不同深度的结构。照明部分包括:光源(一般为电光源)和聚光器两大部分。光学部分由目镜和物镜组成。目镜装在镜筒的上端,通常备有 2 个,上面刻有“5×”、“10×”或“15×”符号以表示其放大倍数,一般使用 10× 的目镜。由于每个人的瞳距不一定相等,因此,显微镜两个目镜之间的距离可以进行调节。物镜装在镜筒下端的旋转器上,一般有 4~6 个物镜,其中刻有“4×”、“10×”、“20×”、“40×”或“100×”符号,最长的刻有“100×”符号的物镜为油镜。此外,在各倍率物镜上还常加有一

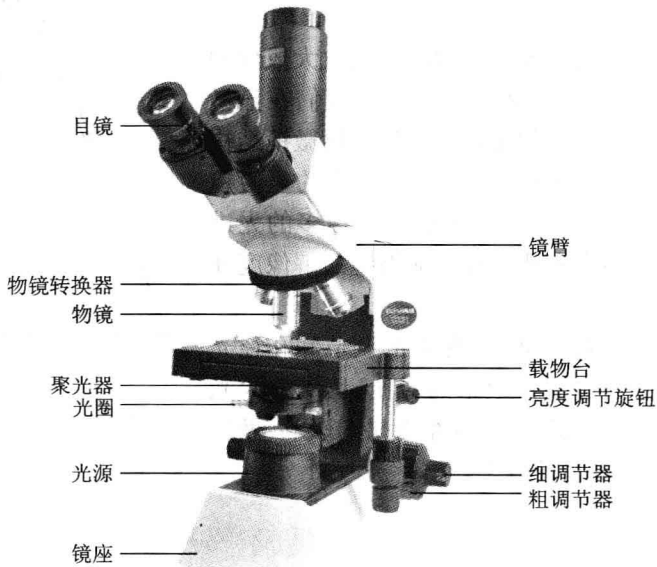


图 1-2 显微镜的构造

圈不同颜色的色线,以示区别。在物镜上,还标有数值孔径(N. A.)的标识,它反映该镜头分辨率的大小,其数值越大,表示分辨率越高。各物镜的数值孔径如表1-1。

表1-1 各倍数物镜的参数

物镜	数值孔径(N. A.)	工作距离/mm
10×	0.25	5.40
40×	0.65	0.39
100×	1.30	0.11

表1-1中的工作距离是指显微镜处于工作状态(物像调节清楚)时物镜的前端镜片表面与盖玻片(盖玻片的厚度一般为0.17 mm)上表面之间的距离。物镜的放大倍数愈大,它的工作距离愈小。显微镜的最终放大倍数是物镜的放大倍数与目镜的放大倍数的乘积,如物镜为10×,目镜为10×,其放大倍数就为 $10 \times 10 = 100$ 。但是,值得特别指出的是,通过显微照相获得的图像的放大倍数往往不等于物镜倍数 \times 目镜倍数。因此,图像放大倍数应该用标尺进行标示。

2. 孔径光阑的调节

孔径光阑的作用是用来调节聚光镜的数值孔径,使其与物镜的数值孔径做出适当的配合,以取得最佳的分辨率。因此,显微镜在使用过程中,当转换物镜对标本进行观察时,往往需要调节孔径光阑。数值孔径与分辨率有密切关系,所以聚光镜的数值孔径与物镜的数值孔径应相匹配,通常低数值孔径的物镜应配合低数值孔径的聚光镜,反之,高数值孔径的油镜应配合高数值孔径的聚光镜,这样才能提高图像的分辨率。一般来说,孔径光阑的数值孔径等于物镜的数值孔径的60%~80%(图1-3)。

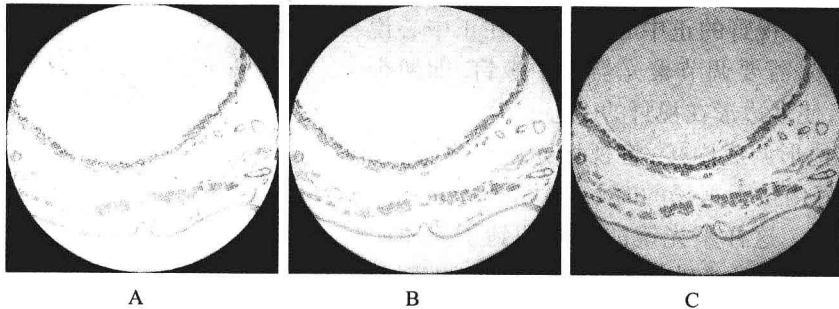


图1-3 不同数值孔径对图像质量的影响

A. 孔径光阑开得大,视野亮,杂散光和眩光多,对比度差;B. 孔径光阑适当,分辨率和反差合适,图像清晰,对比度高;C. 孔径光阑过小,视野暗,成像细节不清楚。

3. 聚光镜的位置与合轴调节

目前显微镜普遍采用柯勒照明,这是一种最佳的中心亮视野照明方法。显微镜是共轴光学系统,因此安装好显微镜后必须进行合轴调整。校正光轴的意义在于使物镜、目镜、聚光镜的主光轴和可变光阑的中心点重合在一条直线上。所以又叫做合轴调节或中心调节。如果光轴歪斜,会使像差增大,分辨率和清晰度都要下降。通常,现代显微镜的光源合轴调节已经在显微镜的安装调试过程中完成。本实验重点介绍聚光镜的调节。

聚光镜是照明光路中的一个重要的部件(图 1-4),调节得不好会使视野中常因杂散光的影响而产生眩光或灰蒙蒙的效果。聚光镜系统的调节至关重要,调节的好坏,可以直接影响到显微镜视野照明的均匀性,以及图像的反差,从而影响显微镜的分辨率。

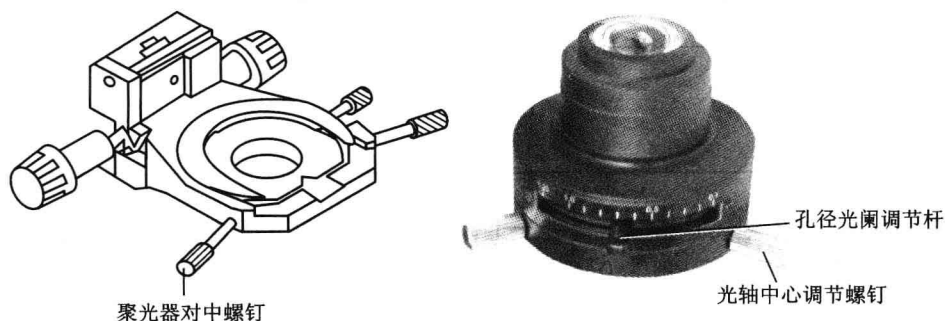


图 1-4 聚光镜的结构

(1) 调出清晰的多边形:将视场光阑和孔径光阑调到最小的状态,如果显微镜的状态正确,此时在视野中应该可以看到一个边缘清楚的多边形(图 1-5)。

如果看到的不是一个边缘清楚的多边形,则说明光路中的聚光镜上下位置不准确。此时转动聚光镜的上下调节旋钮,使聚光镜缓慢上升或下降,使得视场中形成一个边缘清晰的多边形。有时如果找不到多边形,可以将视场光阑稍微放大,在稍亮的情况下就可以找到。

(2) 多边形调到正中心:视野中的多边形的正确位置应该是在视野的正中心,如果不在正中心说明光路有偏移,需要调节聚光器对中螺钉,即两个银色的旋钮,使多边形在视野的中心。

(3) 多边形调成内接:将视场光阑慢慢放大,当多边形正好内接于视场的时候,就是视场光阑的最佳工作位置。这样聚光镜的光轴调到了与照明光路以及成像光路的光轴合轴(图 1-6)。调节好后,日常使用中不要随意调对中螺钉!

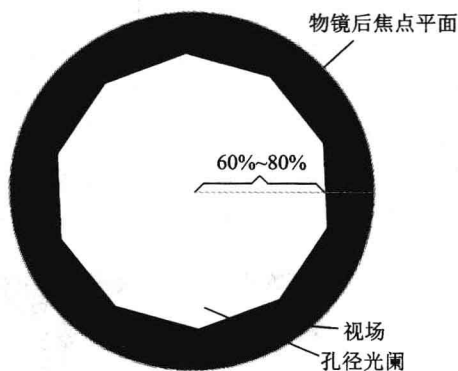


图 1-5 视野中的多边形图案
孔径光阑的数值孔径一般处于物镜的数值孔径的 60%~80% 之间。

4. 样本的观察

观察前,将显微镜从显微镜柜或镜箱内取出,用右手紧握镜臂,左手托住镜座,平稳地将显微镜放到实验桌上。将显微镜放在自己身体的左前方,离桌子边缘约 10 cm 左右,右侧可放记录本或绘图纸。

(1) 调节光照:打开电源开关,通过调节电压旋钮来调节显微镜的光照强弱。为了延长电源灯泡使用寿命,显微镜电源开启前或关闭前,电压旋钮都应调节到最小值。

(2) 调节目镜间距:打开显微镜电源后,调节两个目镜之间的距离,直至双眼观察视野时,左、右两眼视场像合二为一。

(3) 低倍镜观察:首先取一玻片标本放在载物台上,一定使有盖玻片的一面,即标本面

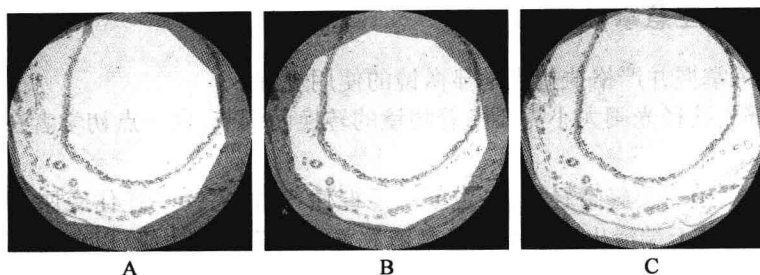


图1-6 聚光镜的合轴调节

A. 视野中的多边形偏向左上角,说明光路存在偏移; B. 通过调节聚光器以实现光路聚中; C. 完成聚中后,放大视场光阑,让多边形与视场内接。

朝上,切勿放反。用推片器弹簧夹夹住,然后旋转推片器螺旋,将所要观察的部位移动到通光孔的正中。先用 $4\times$ 倍或 $10\times$ 倍低倍物镜找到目标位置。以左手或双手轻轻转动粗调节器,使载物台缓慢上升至最高或物镜距标本片约 5 mm 处。在上升载物台时应注意,切勿在目镜上观察标本,一定要从右侧看着载物台上升,以免上升过多,造成镜头或标本片的损坏。然后,用双眼在目镜上观察,同时用左手缓慢转动粗调节器,使载物台缓慢下降,直到视野中出现物像为止。如果物像不在视野中心,可移动推片器将其调到中心(注意:有的显微镜中移动玻片的方向与视野物像移动的方向是相反的)。调节细调节器,使物像清晰。如果视野内的亮度不合适,可调节亮度调节旋钮或使用减光片调节照明亮度。在调节焦距时,如果载物台下降已超过工作距离($>5.4\text{ mm}$)而未见到物像,说明此次操作失败,则应重新操作,切不可心急而盲目地上升载物台。

(4) 高倍镜观察:在低倍镜下观察到清晰的物像后,转动物镜转换器,调换至 $20\times$ 或 $40\times$ 高倍物镜,调节细调节器 $0.5\sim 1$ 圈,使载物台上升,即可获得清晰的物像(切勿用粗调节器!)。换用高倍镜后视场会变暗,应适当增加照明强度。同时,应该调节孔径光阑大小,使之与物镜匹配,以获得清晰度高、反差适中的物像。如果需要更换标本,必须转动粗调节器使载物台下降,方可取下标本。

(5) 油镜的使用与清洁:油浸物镜(简称油镜)的工作距离很短,一般在 0.2 mm 以内,放大倍数通常为 100 倍,并带有“Oil”标识。学生用光学显微镜的油镜镜头一般都无法伸缩,因此使用油镜时要特别细心,避免由于调节焦距不慎而压碎标本片并使物镜受损。由于油镜放大倍数高,且工作距离短,因此,要想快速准确地油镜下观察到标本,需要先在低倍镜下找到待观察的标本,然后逐级转换镜头到油镜下观察。比如从 40 倍镜头到 100 倍物镜,当在 40 倍镜头下得到清晰物像时,移开 40 倍镜头,并在标本上滴加 1 滴香柏油,然后将油镜旋转到标本上,缓慢并小幅度地调节细调节器,就能在油镜下得到清晰的物像。在此过程中,注意载物台不要前后、左右移动,否则根本找不到想要观察的物像。同时,需要调节光线强度和孔径光阑,使物像清晰度更高、更好。油镜使用完毕,先下降载物台,并将油镜头转出,然后立即用擦镜纸擦去镜头上的油,再用干净的擦镜纸蘸少许乙醚-酒精混合液($2:3$)或二甲苯擦去镜头上残留的油迹,最后用擦镜纸擦拭 $2\sim 3$ 下即可。如果在油镜下观察不到清晰的物像,原因之一是忘了滴加镜油或镜油量不够,另外可能就是油镜镜头上有未擦拭干净且已经发干的残留镜油,需要重新对镜头进行清洁。