



生物科学专业6+x 简明教程系列·配套实验教材

细胞生物学实验教程

Cell Biology Experimental Course

韩榕 主编



科学出版社

生物科学专业“6+X”简明教程系列·配套实验教材

细胞生物学实验教程

韩榕 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书结合编者多年教学实践并参考吸收了近年来国内院校细胞生物学实验教材的精华,由11位一线教师及专家编写而成。全书分为4个部分共24个实验,内容涵盖显微镜技术、细胞化学、细胞器的分离和鉴定、染色体标本制作、细胞培养和细胞融合、染色体畸变检测、细胞凋亡检测等基础性实验及综合设计性实验的选题、设计和实施等。实验内容设置合理,可操作性强,能够反映目前细胞生物学研究现状和发展趋势。在编写中对每个实验易出现的问题进行了提示,为培养学生的探究及思维能力,每个实验设置了思考问题。本书旨在培养学生基本的细胞生物学实验技能和综合创新能力。

本书可作为地方高等师范院校生命科学专业的本科生教材及考研参考用书,也可作为相关专业的教师、研究生和其他科研人员的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

细胞生物学实验教程/韩榕主编. —北京:科学出版社,2013

生物科学专业“6+X”简明教程系列·配套实验教材

ISBN 978-7-03-037497-4

I. ①细… II. ①韩… III. ①细胞生物-实验-高等学校-教材 IV. ①Q2-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2013)第103428号

责任编辑:刘丹 王国栋 / 责任校对:彭涛

责任印制:阎磊 / 封面设计:迷底书装

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

新科印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2013年6月第一版 开本:787×1092 1/16

2013年6月第一次印刷 印张:9 1/2

字数:211 000

定价:26.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《细胞生物学实验教程》编委会名单

主 编 韩 榕

编 委 (按姓氏汉语拼音排序)

高惠仙 (太原师范学院)

高丽美 (山西师范大学)

韩 榕 (山西师范大学)

康现江 (河北大学)

李永锋 (山西师范大学)

刘瑞祥 (长治学院)

马晓丽 (晋中学院)

穆淑梅 (河北大学)

史宗勇 (山西农业大学)

杨利艳 (山西师范大学)

张胜伟 (河北师范大学)

前 言

细胞生物学作为生命科学的重要学科，既经典又发展迅速，新的技术方法不断涌现，所以细胞生物学实验内容也相应的庞杂而繁多。很多高校教师和学生，特别是地方高等院校师生希望有一本内容丰富、涵盖性强，既能体现经典实验内容又能很好地反映学科前沿，且操作性较强的实验教材，基于此目的我们编写了本书。

本书入编实验从类别上分为四部分，共计 24 个实验。第一部分：显微镜及其制片技术。该部分主要介绍普通光学显微镜、特殊光学显微镜（如偏光、暗视场、相差、荧光）、激光共聚焦扫描显微镜、电子显微镜等及其样品的制备技术。第二部分：基础性实验。选入该部分的大多为细胞生物学经典实验，内容上包括细胞形态与结构的观察、细胞化学、细胞膜生理、细胞增殖与染色体制备技术、细胞培养等。第三部分：综合性实验。该部分强调基本实验技术的综合运用，培养学生对知识的归纳综合能力和对综合知识的应用能力，以及创新意识、团结协作精神、分析问题和解决问题的能力。第四部分：设计性实验。该部分从实验材料的准备、试剂配制、实验的完成到实验结果的分析基本上都由学生独立完成，教师主要起组织、引导、启发和答疑解惑的作用，这部分实验的目的在于进一步激发学生学习的积极性，重点培养学生的创新意识和创新能力，在编写中适当为学生提供了可参考的实验研究方案，同时留有启发学生思考的空间，鼓励学生通过搜集资料独立设计方案开展研究。

参加本书编写的作者均为长期在一线从事细胞生物学教学和科研的教师，他们具备扎实的专业基础知识和丰富的教学经验，成员之间团结协作，保障了本书的顺利完成。

本书编写过程中，科学出版社的王国栋编辑在文字核正、图片修订等方面提出了宝贵的修改意见，在此表示诚挚的谢意。由于编者水平有限，本书中必然会存在一些不足或错漏之处，敬请各位专家及读者批评指正。

编 者

2013 年 5 月

目 录

前言

第一部分 显微镜及其制片技术

实验一 普通光学显微镜的使用及装片制备	3
实验二 特殊光学显微镜的原理及使用	12
实验三 激光共聚焦扫描显微镜的原理及使用	24
实验四 透射电子显微镜及其样品制备	28
实验五 扫描电子显微镜原理及样品制备	35

第二部分 基础性实验

实验六 细胞显微结构观察	41
实验七 细胞器的活体染色与观察	45
实验八 叶绿体的分离纯化与荧光观察	51
实验九 细胞骨架的染色与观察	54
实验十 核酸的细胞化学	59
实验十一 细胞膜生理	63
实验十二 细胞增殖与染色体制备技术	74
实验十三 植物原生质体的制备与培养	80
实验十四 动物细胞培养	87
实验十五 细胞周期与细胞凋亡	93

第三部分 综合性实验

实验十六 流式细胞术检测细胞周期中 DNA 的含量	101
实验十七 单细胞凝胶电泳检测细胞中 DNA 链的断裂	105
实验十八 植物细胞染色体显带与核型分析	110
实验十九 植物原生质体的分离及外源基因的瞬时表达	118

实验二十	体外培养细胞的冻存、复苏和活力测定	121
------	-------------------------	-----

第四部分 设计性实验

实验二十一	植物组织培养	127
实验二十二	动物细胞融合	134
实验二十三	细胞凋亡的生化特征检测	137
实验二十四	细胞异常分裂与染色体畸变的诱导及观察	140

实验一

普通光学显微镜的使用及装片制备

实验目的

1. 熟悉普通光学显微镜的主要构造及其性能。
2. 掌握低倍镜、高倍镜及油镜的使用方法。
3. 了解光学显微镜的维护方法。

实验原理

光学显微镜 (optical microscope) 是一种利用透镜成像原理将微小实物放大成像的光学系统, 其基本成像原理如图 1-1 所示。物镜和目镜的结构虽然比较复杂, 但它们的作用都相当于凸透镜, 由于被检标本放在物镜下方 $1\sim 2$ 倍焦距之间, 上方形成一倒立的放大实像, 该实像正好位于目镜的下焦点 (焦平面) 之内, 目镜进一步将它放大成一个虚像, 通过调焦可使虚像落在眼睛的明视距离处, 在视网膜上形成一个直立的实像。显微镜中被放大的倒立虚像与视网膜上直立的实像是相吻合的, 该虚像看起来好像在离眼睛 25cm 处。

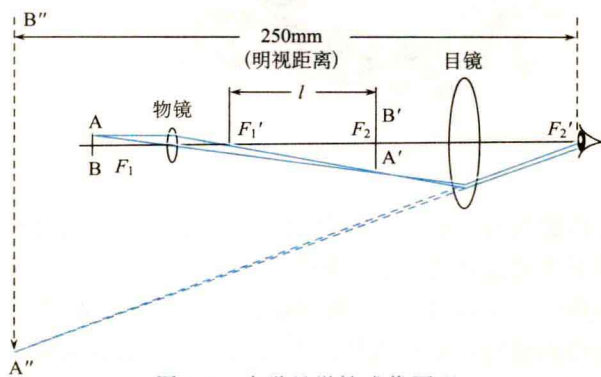


图 1-1 光学显微镜成像原理

一、光学显微镜的主要结构

包括机械部分、照明部分和光学器件（图 1-2）。现代光学显微镜观察系统还应包括摄像元件 CCD。

1. 机械部分

(1) 镜筒。为安装在光镜最上方或镜臂前方的圆筒状结构，其上端装有目镜，下端与物镜转换器相连。根据镜筒的数目，光镜可分为单筒式和双筒式两类。单筒光镜又分为直立式和倾斜式两种。而双筒式光镜的镜筒均为倾斜的。镜筒直立式光镜的目镜与物镜的中心线互成 45° ，在其镜筒中装有能使光线折转 45° 的棱镜。

(2) 物镜转换器。又称物镜转换盘，是安装在镜筒下方的一个圆盘状构造，可以按顺时针或逆时针方向自由旋转。其上均匀分布有 3、4 个圆孔，用以装载不同放大倍数的物镜。转动物镜转换器可使不同的物镜到达工作位置（即与光路合轴）。使用时注意凭手感使所需物镜准确到位。

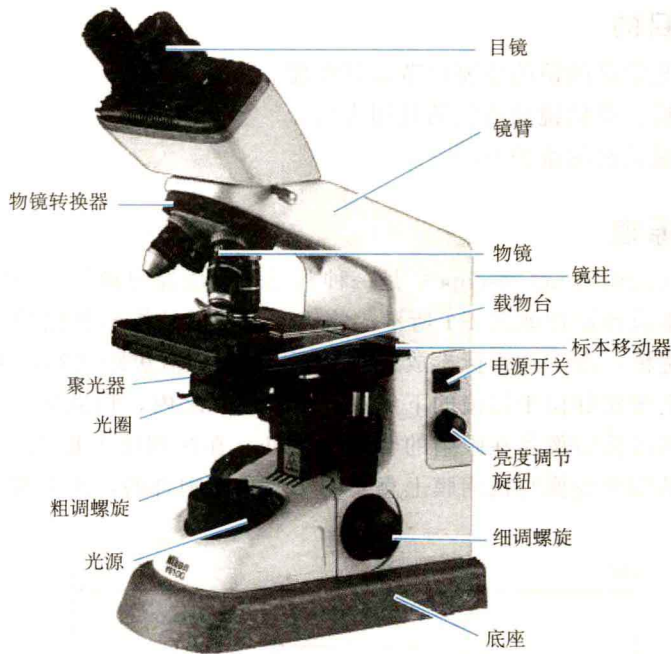


图 1-2 普通光学显微镜结构图

(3) 镜臂。为支持镜筒和镜台的弯曲状构造，是取用显微镜时握拿的部位。镜筒直立式光镜在镜臂与其下方的镜柱之间有一倾斜关节，可使镜筒向后倾斜一定角度以方便观察，但使用时倾斜角度不应超过 45° ，否则显微镜由于重心偏移容易翻倒。在使用临时装片时，千万不要倾斜镜臂，以免液体或染液流出，污染显微镜。

(4) 调焦器。也称调焦螺旋或调焦手轮，为调节焦距的装置，位于镜臂的上端（镜

筒直立式光镜)或下端(镜筒倾斜式光镜),分粗调螺旋(大螺旋)和细调螺旋(小螺旋)两种。粗调螺旋可使镜筒或载物台以较快速度或较大幅度升降,能迅速调节好焦距使物像呈现在视野中,适用于低倍镜观察时的调焦。而细调螺旋只能使镜筒或载物台缓慢或较小幅度地升降(升或降的距离不易被肉眼观察到),适用于高倍镜和油镜的聚焦或观察标本的不同层次,一般在粗调螺旋调焦的基础上再使用细调焦螺旋,精细调节焦距。

有些类型的光镜,粗调螺旋和细调螺旋重合在一起,安装在镜柱的两侧。左右侧粗调螺旋的内侧有一窄环,称为粗调松紧调节轮,其功能是调节粗调螺旋的松紧度(向外转偏松,向内转偏紧)。另外,在左侧粗调螺旋的内侧有一粗调限位环凸柄,当用粗调螺旋调准焦距后向上推紧该柄,可使粗调螺旋限位,此时镜台不能继续上升但细调螺旋仍可调节。

(5) 载物台。也称镜台,是位于物镜转换器下方的方形平台,是放置被观察的玻片标本的地方。平台的中央有一圆孔,称为通光孔,来自下方的光线经此孔照射到标本上。

在载物台上通常装有标本移动器(也称标本推进器),移动器上安装的弹簧夹可用于固定玻片标本。另外,转动与移动器相连的两个螺旋可使玻片标本前后左右地移动,这样寻找物像时较为方便。

(6) 镜柱。为镜臂与镜座相连的短柱。

(7) 底座。位于显微镜最底部的构造,为整个显微镜的基座,用于支持和稳定镜体。有的显微镜在底座内装有照明光源等构造。

2. 照明部分

即显微镜光源,光学显微镜因观察方式不同而采用不同的光源类型。例如,普通光学显微镜一般采用卤素灯做光源;而荧光显微镜则以高压汞灯或氙灯做光源,以获得高能量的紫外光激发样品发出荧光;在激光扫描共聚焦观察方式中则以激光做光源。

3. 光学器件

光镜的光学系统主要包括物镜、目镜和照明装置(聚光器和光阑等)。

(1) 目镜。又称接目镜,安装在镜筒的上端,起着将物镜所放大的物像进一步放大的作用。每个目镜一般由两个透镜组成,在上下两透镜(即接目透镜和会聚透镜)之间安装有能决定视野大小的金属光阑——视场光阑,此光阑的位置即物镜所放大实像的位置,故可将一小段头发黏附在光阑上作为指针,用以指示视野中的某一部分供观察。另外,还可在光阑的上面安装目镜测微尺。每台显微镜通常配置2或3个不同放大倍率的目镜,常见的有 $5\times$ 、 $10\times$ 和 $15\times$ (\times 表示放大倍数)的目镜,可根据不同的需要选择使用,最常使用的是 $10\times$ 目镜。

(2) 物镜。也称接物镜,安装在物镜转换器上。每台光镜一般有3或4个不同放大倍率的物镜,每个物镜由数片凸透镜和凹透镜组合而成,是显微镜最主要的光学部件,决定着光学显微镜分辨力的高低。物镜常用的放大倍数有 $10\times$ 、 $40\times$ 和 $100\times$ 等,一般

将 $8\times$ 或 $10\times$ 的物镜称为低倍镜 ($5\times$ 以下的称为放大镜)；将 $40\times$ 或 $45\times$ 的称为高倍镜；将 $90\times$ 或 $100\times$ 的称为油镜 (这种镜头在使用时需浸在镜油中)。

通常，在每个物镜上都刻有能反映其主要性能的参数，主要有放大倍数和数值孔径 (如 $10/0.25$ 、 $40/0.65$ 和 $100/1.25$) (图 1-3)、该物镜所要求的镜筒长度和标本上的盖玻片厚度 ($160/0.17$) 等，另外，在油镜上还常标有“油”或“Oil”的字样。

油镜在使用时需要用香柏油或石蜡油作为介质，这是因为油镜的透镜和镜孔较小，而光线要通过载玻片和空气才能进入物镜中，玻璃与空气的折光率不同，使部分光线产生折射而损失掉，导致进入物镜的光线减少，而使视野暗淡，物像不清。在玻片标本和油镜之间填充折射率与玻璃近似的香柏油或石蜡油时 (玻璃、香柏油和石蜡油的折射率分别为 1.52、1.51 和 1.47，空气为 1)，可减少光线的折射，增加视野亮度，提高分辨率。物镜分辨力的大小取决于物镜的数值孔径 (numerical aperture, N. A.)，N. A. 又称为镜口率，其数值越大，则表示分辨力越高。

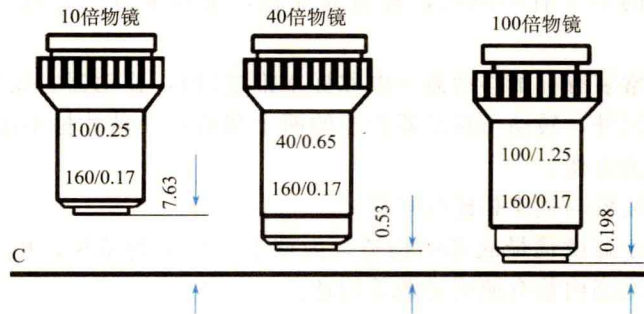


图 1-3 物镜的性能参数及工作距离

C 线为盖玻片的上表面。10 倍物镜的工作距离为 7.63mm；40 倍物镜的工作距离为 0.53mm；100 倍物镜的工作距离为 0.198mm。10/0.25、40/0.65、100/1.25 表示镜头的放大倍数和数值孔径。160/0.17 表示显微镜的机械镜筒长度 (标本至目镜的距离) 和盖玻片的厚度，即镜筒长度为 160mm，盖玻片厚度为 0.17mm

(3) 聚光器。位于载物台的通光孔的下方，由聚光镜和光圈构成，其主要功能是将光线集中到所要观察的标本上。聚光镜由 2 或 3 个透镜组合而成，其作用相当于一个凸透镜，可将光线汇集成束。在聚光器的左下方有一调节螺旋可使其上升或下降，从而调节光线的强弱，升高聚光器可使光线增强，反之则光线变弱。

光圈也称为彩虹阑或孔径光阑，位于聚光器的下端，是一种能控制进入聚光器的光束大小的可变光阑。它由十几张金属薄片组合排列而成，其外侧有一小柄，可使光圈的孔径开大或缩小，以调节光线的强弱。在光圈的下方常装有滤光片框，可放置不同颜色的滤光片。

二、显微镜使用中的一些重要参数及术语

(1) 分辨率 (resolving power) 与放大率。分辨率也称为分辨力或分辨本领，是指显微镜或人眼在 25cm 的明视距离处，能清楚地分辨被检物体细微结构最小间隔的能

力,即分辨出标本上相互接近的两点间的最小距离的能力。据测定,人眼的分辨力约为 $100\mu\text{m}$ 。显微镜的分辨力由物镜的分辨力决定,物镜的分辨力就是显微镜的分辨力,而目镜与显微镜的分辨力无关。光镜的分辨力(R)(R 值越小,分辨力越高)可以下式计算:

$$R = \frac{0.61\lambda}{n\sin\theta}$$

式中, n 为聚光镜与物镜之间介质的折射率(空气为1、香柏油为1.51); θ 为标本对物镜镜口张角的半角, $\sin\theta$ 的最大值为1; λ 为照明光源的波长(白光约为 $0.5\mu\text{m}$)。

放大率也称放大倍数,是光镜性能的另一重要参数,一台显微镜的总放大倍数等于目镜放大倍数与物镜放大倍数的乘积。

(2) 齐焦(parfocality)与同轴。齐焦指两个以上物镜对同一物体成像在同一平面上的调焦要求,也就是一个物镜对物体调清楚后,更换其他倍率物镜时,不应再调焦或微量调焦就能看清物体。同轴则指同一显微镜系统中的不同物镜在相互转换时偏离光轴的现象。一台优异的显微镜应当具有绝佳的齐焦与同轴性能。

(3) 明视距离(distance of distinct vision)。正常人眼在一般照明下习惯的观察距离,这个值为250mm,常用来计算放大镜和目镜的放大率。

(4) 数值孔径。数值孔径又称镜口率,它是显微镜物镜的重要参数。

数值孔径越大,分辨率越高。

$$N. A. = n\sin\theta_{\max}$$

式中, n 为折射率(空气 $n=1$;香柏油 $n=1.51$); θ_{\max} 为物镜所能采纳的最大光锥的半角,即边缘光线和光轴的夹角。

(5) 视场光阑(field diaphragm)。显微镜上有照明系统的视场光阑,目镜的视场光阑限制视场范围大小的光阑,即决定视场大小的光阑。

(6) 孔径光阑(aperture diaphragm)。显微镜上有限制轴上物点成像光束孔径大小的光阑,即决定孔径角大小的光阑。被孔径光阑限制的孔径称为有效孔径(effective aperture)。

(7) 工作距离(work distance)。工作距离是指显微镜处于工作状态(焦距调好、物像清晰)时,物镜最下端与盖玻片上表面之间的距离。不同的物镜有不同的工作距离。物镜的放大倍数与其工作距离成反比。当低倍镜被调节到工作距离后,可直接转换高倍镜或油镜,只需要用细调螺旋稍加调节焦距便可见到清晰的物像,这种情况称为同高调焦(或齐焦)。

(8) 临界照明与科勒照明。显微镜的照明根据设计不同有两种。一种简单的照明方式是临界照明,即在光源和物体之间设有一个简单的聚光器,调节这个聚光器的位置可使光源灯丝的像聚集并叠加在标本平面,所以标本照明很亮但不均匀;另一种为科勒照明系统,在照明光路中除了有聚光器外,还在放置光源的灯室内设有集光器。经过科勒照明光路后,光源灯丝的像不再叠加在标本平面,而是在标本平面上呈现一个照明区,这个照明区实际上是视场光阑经聚光器后在标本平面上的成像。因此,通过调节聚光器的位置,可以使照明区的边界聚焦清楚;通过调节视场光阑的大小,可改变照明区域的

大小；通过调节聚光器上的调中螺旋可调节照明区的位置。因此，科勒照明有 3 步：①对中和调整聚光镜的高度；②调整视场光阑；③调整孔径光阑。

总之，光学显微镜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结构和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，来自不同国家、具有先进性能的各种新型显微镜不断装备着实验室。然而，要想得到完美的显微观察结果并非易事。大多数照片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，影响实验结果的质量和可靠性。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，而是操作者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述问题，最大限度地发挥各种新型显微镜的优越性能。本实验着重讲解显微镜的基本操作方法，以及如何得到优质的显微图片，其中包括科勒照明的调节和孔径光阑的使用等。要求学生通过观察效果的对比，切实体验光路、科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，而且要看到最佳的效果。



仪器设备

普通光学显微镜。



试材准备

1. 生物材料：标本装片、洋葱。
2. 小型器材：擦镜纸、载玻片、盖玻片、刀片、镊子、吸水纸。



实验试剂

1. 蒸馏水
2. 镜头清洗液（乙醚：无水乙醇=7：3）
3. 卡宝品红染液
4. 香柏油



实验步骤

1. 准备

将显微镜小心地从镜箱中取出（移动显微镜时应以右手握住镜臂，左手托住镜座），放置在实验台的偏左侧，以镜座的后端离实验台边缘 6~10cm 为宜。首先检查显微镜的各个部件是否完整和正常。如果是镜筒直立式光镜，可使镜筒倾斜一定角度（一般不应超过 45°），以方便观察（观察临时装片时禁止倾斜镜臂）。

2. 低倍镜的使用方法

- (1) 对光。打开实验台上的工作灯（如果是自带光源显微镜，这时应该打开显微镜

上的电源开关), 转动粗调螺旋, 使镜筒略升高 (或使载物台下降), 调节物镜转换器, 使低倍镜转到工作状态 (即对准通光孔), 当镜头完全到位时, 可听到轻微的扣碰声。

打开光圈并使聚光器上升到适当位置 (以聚光器上端透镜平面稍低于载物台平面的高度为宜)。然后用左眼向目镜内观察 (注意两眼应同时睁开), 同时调节反光镜的方向 (自带光源显微镜, 调节亮度旋钮), 使视野内的光线均匀、亮度适中。

(2) 放置玻片标本。将玻片标本放置到载物台上用标本移动器上的弹簧夹固定好 (注意使有盖玻片或有标本的一面朝上), 然后转动标本移动器的螺旋, 使需要观察的标本部位对准通光孔的中央。

(3) 调节焦距。用眼睛从侧面注视低倍镜, 同时用粗调螺旋使镜头下降 (或载物台上升), 直至低倍镜镜头距玻片标本的距离小于 6mm (注意操作时必须从侧面注视镜头与玻片的距离, 以避免镜头碰破玻片)。然后用左眼通过目镜观察, 同时用左手慢慢转动粗调螺旋使镜筒上升 (或使载物台下降), 直至视野中出现物像, 再转动细调螺旋, 使视野中的物像最清晰。

如果需要观察的物像不在视野中央, 甚至不在视野内, 可用标本移动器前后、左右移动标本的位置, 使物像进入视野并移至中央。调焦时如果镜头与玻片标本的距离已超过 1cm 还未见到物像, 应严格按上述步骤重新操作。

3. 高倍镜的使用方法

(1) 在使用高倍镜观察标本前, 应先用低倍镜找到需观察的物像, 并将其移至视野中央, 同时调准焦距, 使被观察的物像最清晰。

(2) 转动物镜转换器, 直接使高倍镜转到工作状态 (对准通光孔), 此时, 视野中一般可见到不太清晰的物像, 只需调节细调螺旋, 即可使物像清晰。

4. 油镜的使用方法

(1) 用高倍镜找到所需观察的标本物像, 并将需要进一步放大的部分移至视野中央。

(2) 将聚光器升至最高位置并将光圈开至最大 (因油镜所需光线较强)。

(3) 转动物镜转换器, 移开高倍镜, 往玻片标本上需观察的部位 (载玻片的正面, 相当于通光孔的位置) 滴 1 滴香柏油 (折光率 1.51) 或石蜡油 (折光率 1.47) 作为介质, 然后在眼睛的注视下, 使油镜转至工作状态。此时, 油镜的下端镜面一般应正好浸在油滴中。

(4) 左眼注视目镜中, 同时小心而缓慢地转动细调螺旋 (注意这时只能使用微调螺旋, 千万不要使用粗调螺旋) 使镜头微微上升 (或使载物台下降), 直至视野中出现清晰的物像。操作时不要反方向转动细调螺旋, 以免镜头下降压碎标本或损坏镜头。

(5) 油镜使用完后, 必须及时将镜头上的油擦拭干净。操作时先将油镜升高 1cm, 并将其转离通光孔, 先用干擦镜纸揩擦一次, 把大部分的油去掉, 再用沾有少许清洗液或二甲苯的擦镜纸擦一次, 最后再用干擦镜纸揩擦一次。至于玻片标本上的油, 如果有盖玻片的永久制片, 可直接用上述方法擦干净; 如果是无盖玻片的标本, 则盖玻片上

的油可用拉纸法揩擦,即先把一小张擦镜纸盖在油滴上,再往纸上滴几滴清洗液或二甲苯,趁湿将纸往外拉,如此反复几次即可干净。

5. 临时装片的制备方法

- (1) 擦拭载玻片、盖玻片。
- (2) 在载玻片的中央滴 1 滴清水。
- (3) 在洋葱内表皮用刀片划出一个约 1cm^2 的正方形(在使用刀片时注意安全),用镊子撕取洋葱内表皮。
- (4) 将内表皮置于载玻片上的清水中,并使之铺开。
- (5) 从一侧开始慢慢盖上盖玻片,不能有气泡产生。
- (6) 在盖玻片的一侧滴 1 滴卡宝品红染液。
- (7) 然后用吸水纸从另一侧吸去多余的染液,使洋葱表皮细胞均匀染色。
- (8) 显微镜下观察染色后的洋葱细胞(图 1-4)。

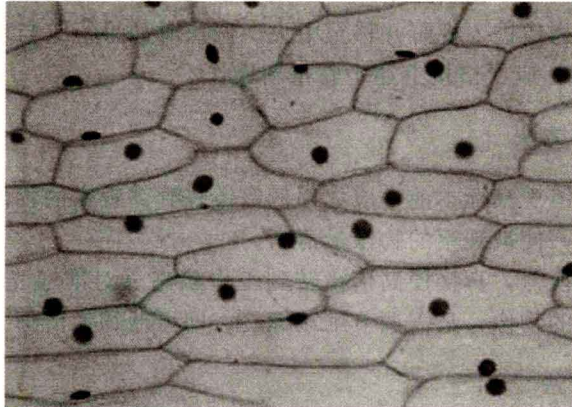


图 1-4 洋葱鳞状叶表皮细胞(示细胞壁核, 10×10)



注意事项

1. 在从低倍镜准焦的状态下直接转换到高倍镜时,有时会发生高倍物镜碰擦玻片而不能转换到位的情况(这种情况,主要是高倍镜、低倍镜不配套,即不是同一型号的显微镜上的镜头),此时不能硬转,应检查玻片是否放反、低倍镜的焦距是否调好及物镜是否松动等情况后重新操作。如果调整后仍不能转换,则应将镜筒升高(或使载物台下降)后再转换,然后在眼睛的注视下使高倍镜贴近盖玻片,再一边观察目镜视野,一边用粗调螺旋使镜头极其缓慢地上升(或载物台下降),看到物像后再用细调螺旋准焦。

2. 由于制造工艺的原因,许多显微镜的低倍镜视野中心与高倍镜视野中心往往存在一定的偏差(即低倍镜与高倍镜的光轴不在一条直线上),因此,在从低倍镜转换高倍镜观察标本时常会给观察者迅速寻找标本造成一定困难。为了避免这种情况的出现,帮助观察者在高倍镜下能较快找到所需放大部分的物像,可事先利用羊毛交叉装片标本

来测定所用光镜的偏心情况，并绘图记录制成偏心图。具体操作步骤如下：①用高倍镜找到羊毛交叉点，并将其移至视野中心；②换低倍镜观察羊毛交叉点是否还位于视野中央，如果偏离视野中央，其所在的位置就是偏心位置；③将前面两个步骤反复操作几次，以找出准确的偏心位置，并绘出偏心图。找出光镜的偏心点之后，在使用该显微镜的高倍镜观察标本时，事先可在低倍镜下将需进一步放大的部位移至偏心位置处，再转换高倍镜观察时，所需的观察目标就正好在视野中央。

3. 不可随意拆卸显微镜上的零部件，以免发生丢失、损坏或使灰尘落入镜内。

4. 显微镜的光学部件不可用纱布、手帕、普通纸张或手指揩擦，以免磨损镜面，需要时只能用擦镜纸轻轻擦拭。机械部分可用纱布等擦拭。

5. 在任何时候，特别是使用高倍镜或油镜时，都不要一边在目镜中观察，一边下降镜筒（或上升载物台），以避免镜头与玻片相撞，损坏镜头或玻片标本。

6. 显微镜使用后应及时复原。先升高镜筒（或下降载物台），取下玻片标本，使物镜转离通光孔。若镜筒、载物台是倾斜的，应恢复直立或水平状态。然后下降物镜（或上升载物台），使物镜与载物台相接近。垂直反光镜，下降聚光器，关小光圈，最后放回镜箱中锁好。



思考问题

1. 使用显微镜观察标本时，为什么必须按从低倍镜到高倍镜，再到油镜的顺序进行？

2. 在调焦时为什么要先将低倍镜与标本表面的距离调节到 6mm 之内？

3. 如果标本片放反了，可用高倍镜或油镜找到标本吗？为什么？

4. 怎样才能准确而迅速地在高倍镜或油镜下找到目标？

5. 如果细调螺旋已转至极限而物像仍不清晰，应该怎么办？

6. 如何判断视野中所见到的污点是否在目镜上？

7. 在对低倍镜进行准焦时，如果视野中出现了随标本移动而移动的颗粒或斑纹，是否将标本移至物镜中央，就一定能找到标本的物像？为什么？



参考文献

杨汉民. 1997. 细胞生物学实验. 2 版. 北京: 高等教育出版社

郑国锷, 谷祝平. 1993. 生物显微技术. 北京: 高等教育出版社