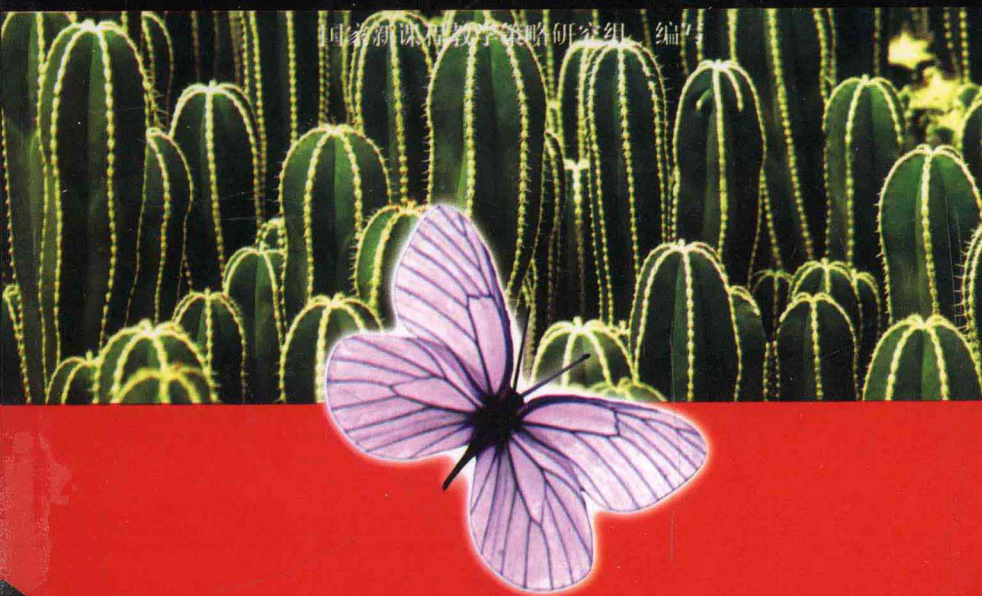


青少年百科

QINGSHAONIAN BAIKE

生物技术 ABC

国家新课程教学策略研究组 编写



走近生物科学与技术，领略高科技魅力。

新疆青少年出版社
喀什维吾尔文出版社

青少年百科

qing shao nian bai ke

生物技术 ABC

国家新课程教学策略研究组/编写

新疆青少年出版社

喀什维吾尔文出版社

图书在版编目(CIP)数据

青少年百科/顾永高主编…喀什:喀什维吾尔文出版社;乌鲁木齐:新疆青少年出版社,2004.7

(中小学图书馆必备文库)

ISBN 7-5373-1083-1

I. 青… II. 顾… III. 科学知识—青少年读物

IV. Z228.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 040604 号

青少年百科

生物技术 ABC

国家新课程教学策略研究组/编写

新疆青少年出版社 出版
喀什维吾尔文出版社

北京市朝教印刷厂印刷

850×1168 毫米 32 开 1200 印张 28000 千字

2004 年 7 月第 1 版 2005 年 12 月第 2 次印刷

印数:1001—3000 册

ISBN 7-5373-1083-1

总定价:2960.00 元(共 200 册)

前 言

生物课程是高中阶段的重要课程。在当代科学领域中,生物科学与技术的发展尤为迅速,成果显著,影响广泛而深远,DNA 分子结构和功能的揭示、体细胞克隆生物技术的突破、人类基因组计划的实施、干细胞研究的进展、脑科学的深入发展、生物工程产业的兴起等,正改变着人们的生活。

生物科学和技术不仅影响人类的生活、社会文明和经济活动,还深刻影响着人们的思想观念和思维方式。高中生物课程也与时俱进,不断改革,并取得了显著的成绩。

本系列书编写时注意通俗与专业相结合,时效性和可读性强,既可作为教师、学生的参考书,又可作为生命科学的普及用书。可帮助学生理解生命科学和社会发展的相互作用,增强学生对自然和社会的责任感。

由于时间关系,加之编者的水平有限,书中难免有不足之处,望读者见谅。

编 者

目 录

第一章 生物学习与研究常用仪器与技术.....	(1)
光学显微镜.....	(1)
明视野显微镜.....	(3)
暗视野显微镜.....	(4)
相差显微镜.....	(5)
微分干涉差显微镜.....	(6)
荧光显微镜.....	(8)
显微镜光度术.....	(9)
显微摄影术	(11)
显微摄影的三大技术要领	(12)
电子显微术	(14)
石蜡切片	(18)
超薄切片技术	(29)
细胞培养	(35)
层析	(37)

层析法的一般分类	(38)
电泳	(39)
超速离心	(41)
沉降系数	(42)
火箭电泳	(43)
免疫电泳	(44)
免疫电镜	(45)
免疫标记	(46)
免疫荧光	(46)
免疫酶技术	(47)
第二章 基础实验与技术	(49)
果蝇遗传实验	(49)
微生物的制片染色技术	(56)
细菌的制片染色	(57)
微生物的纯培养技术	(64)
培养基	(69)
溶液培养	(75)
植物组织培养	(77)
植物组织培养实验	(78)
植物标本室	(84)

植物标本的采集、制作和保存.....	(85)
鸟、兽标本的剥制方法.....	(90)
昆虫针插标本的制作方法	(95)
第三章 前沿生物技术	(98)
细胞工程	(98)
杂交瘤技术	(99)
基因工程.....	(102)
蛋白质工程.....	(106)
组织工程:再造生命奇迹	(107)
胚胎工程.....	(109)
酶工程.....	(112)
性别控制技术.....	(114)
生物芯片.....	(119)
第四章 生物技术现状与发展.....	(123)
中国生物技术与产业发展.....	(123)
纳米生物技术现状与展望.....	(128)
生物技术专利保护面临挑战(上).....	(134)
生物技术专利保护面临挑战(下)	(144)
生物技术与生物制药.....	(148)
哺乳动物胚胎工程及其进展简介.....	(153)

干细胞.....	(158)
人类胚胎干细胞研究取得突破进展(一).....	(162)
人类胚胎干细胞研究取得突破进展(二).....	(164)
人类胚胎干细胞研究取得突破进展(三).....	(166)
中国虚拟人.....	(168)
生物技术的应用前景.....	(171)



第一章 生物学习与研究 常用仪器与技术

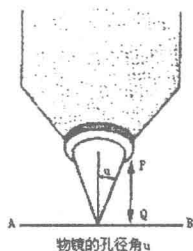
光学显微镜

光学显微镜是用光线作光源,放大并观察用肉眼看不见的微小结构的一种光学仪器。最早的显微镜是荷兰眼镜商詹森(Z. Jansen)于1604年制造。半个多世纪后,英国物理学家胡克(R. Hooke)创制了第一架具有科学研究价值的显微镜,他首次观察了木栓的显微图像,发现了细胞。真正观察到活细胞的是荷兰科学家列文虎克(Antonie van Leeuwenhoek),他用自制的显微镜观察到了池塘水中的原生动物、人和哺乳动物的精子和细菌等,为显微镜的发展作出了重大贡献。此后,显微镜的研究和制造技术发展很快,适用于各种用途的显微镜应运而生,光学显微镜分为可见光显微镜和不可见光显微镜两大类。

可见光显微镜是利用光谱的可见光部分(390~760nm)成像的显微镜。其中根据显微镜的照明技术,可分为明视野显微镜、暗视野显微镜和荧光显微镜等;根据显微镜的成像技术可分为相差显微镜、干涉显微镜、微分干涉差显微镜和偏光显微镜等;根据显微镜的镜体构造可分为倒置显微镜、实体显微镜和比



较显微镜等。近年来又制造出激光扫描显微镜等。不可见光显微镜可以分为紫外光显微镜(390nm 以下的紫外光)、红外光显微镜(760nm 以上的红外光)和 X 射线显微镜等。现代的多功能显微镜(万能显微镜),是在一个主体结构的基础上,带有各种特殊显微镜的附件,为了不同的观察目的,灵活地使用。



显微镜的分辨率是影响显微镜成像清晰度的关键。显微镜的最小分辨距离指将物体放大成像后,能将物体相近两点分辨清楚的极限距离,通常以 D 表示。 D 越小,显微镜的分辨率越高。

$$D = \frac{0.61\lambda}{N \cdot A} \quad N \cdot A = n \sin u$$

式中 λ 为光波波长, $N \cdot A$ 为物镜的数值孔径, n 为物镜与标本间介质的折射率, u 为镜口角也称孔径角,如图所示。孔径角指标本在光轴上的一点对物镜镜口张角的一半,以此式计算,显微镜的最小分辨距离为 0.2 微米,近年来发展的激光共焦扫描显微镜,最小分辨距离可达 30 毫微米。

用绿光照明时,最好的光学显微镜的放大倍数约为 1500 倍,对于低反差的标本,可以通过对固定标本或者活材料染色后

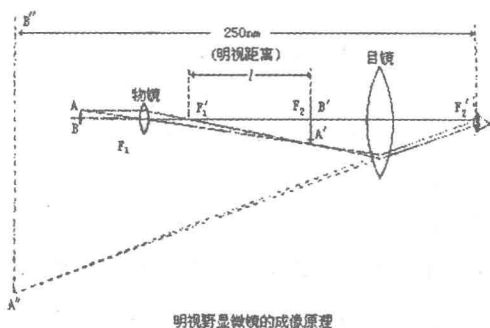


观察,也可以通过上述特殊成像技术的显微镜来观察。

明视野显微镜

它是最通用的一种光学显微镜。利用光线照明,标本中各点依其光吸收的不同在明亮的背景中成像。它由物镜、目镜、聚光镜、光源、载物台和支架等部件组成。其中聚光镜用于调节显微镜的照明,物镜和目镜是放大微小物体成像的主要部件。由同轴的两个正透镜——物镜和目镜组成的显微镜称为复式显微镜。其成像原理如图所示。图中 F_1 与 F_1' 分别为物镜的两个焦点, F_2 与 F_2' 分别为目镜的两个焦点。物件 AB 置于 F_1 的前方,经物镜后,形成一个倒立的实像 $A'B'$, $A'B'$ 所在面为中间像平面,在 F_2 稍靠后一些。 $A'B'$ 经目镜后形成放大的虚像 $A''B''$ 。 $A''B''$ 对物件 AB 是倒立的,对中间像 $A'B'$ 是正立的, $A''B''$ 再通过眼睛后在视网膜上成像。

生物
技术
A
B
C



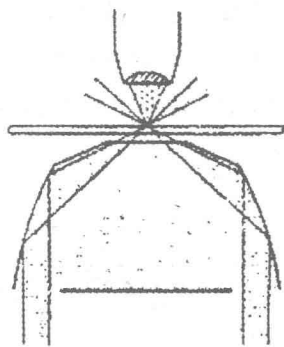
明视野显微镜的成像原理



未经染色处理的生物标本,由于对光线的吸收很少,生成反差低的影像,不利于明视野显微镜观察染料对生物标本染色后增加了反差,成为明视野显微镜的主要观察对象。

暗视野显微镜

它是光学显微镜的一种,是在显微镜中装入特殊的暗视野聚光器。暗视野聚光器的照明光路如图所示。经暗视野聚光器后,照明光线不能直接进入物镜,而是形成倾斜的光线通过标本,标本的像是由标本散射和反射的光线形成的。



暗视野聚光器光路示意图

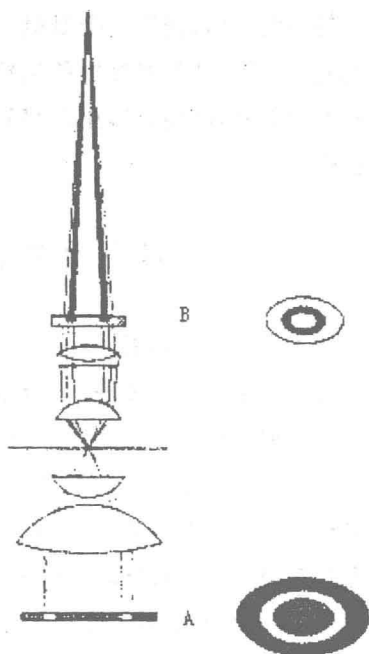
暗视野显微镜形成的像,背景是黑暗的,像是亮的,由于反差的增大,提高了分辨率,所以适合于观察单细胞有机体、硅藻、放线虫类、细菌、细胞中的线状结构如鞭毛等。使用时应注意聚光器的数值孔径应大于物镜的数值孔径,以确保照明光线不进



人物镜内。

相差显微镜

相差显微镜是能将光通过物体时产生的相位差(或光程差)转变为振幅(光强度)变化的显微镜。人的眼睛只能鉴别可见光的波长(颜色)和振幅的变化,不能鉴别相位的变化。但是大多数生物标本高度透明,光波通过后振幅基本不变,却存在相位的变化,人的眼睛感觉不到。19世纪30年代德国物理学家泽尼克首先设计并于1942年制造了第一台相差显微镜,能将这种看不见的相位变化转变为看得见的振幅变化,由于此项发明,泽尼克于1953年获诺贝尔奖。相差显微镜主要用于观察活细胞,不染色的组织切片或缺少反差的染色标本。从结构上看,与一般显微镜不同之处在于:



相差显微镜示意图

A. 环状光栏 B. 相板

相差显微镜的聚光器具有环状光栏,物镜后焦面处设有相板,如图所示。

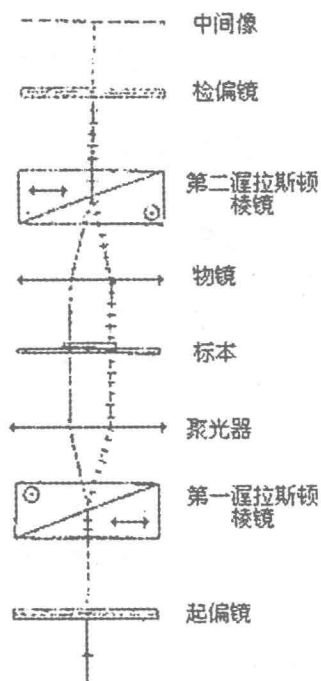


相差显微镜的基本原理是：光线通过标本后，产生直射光线和衍射光线，直射光线超前衍射光线 $1/4$ 波长，相板的作用是使直射光线超前或滞后 $1/4$ 波长。如果应用使光线超前 $1/4$ 波长的相板，直射光就较衍射光共超前 $1/2$ 波长，干涉后造成像暗背景亮，称为正相差。反之，如果应用滞后 $1/4$ 波长的相板，直射光将与衍射光同相位，干涉后造成像亮背景暗，称为负相差。

使用时，必须摘下一个目镜，借助一个聚焦望远镜观察，一边观察，一边调节聚光器中环状光栏的位置，当调节到环状光栏与相板吻合时，将在目镜中观察到一个质量很好的相差显微镜成的像。

微分干涉差显微镜

标本内各点的折射率不同，光通过时，造成光程差不同。光程差为折射率和厚度之乘积。只分开 1 微米或者更小距离的两束相干光通过标本产生干涉后，标本内邻近两点的光程差波显微镜中特殊的光学系统转变为振幅（光强度）的变化，从而可观察到标本内细微的结构，所以称为微分干涉差显微镜。微分干涉差显微镜是一种特殊形式的干涉显微镜，两者的差别在于，后者的两束相干光分别通过标本内和标本外。根据照明方式，微分干涉差显微镜分为落射式和透射式两种，生物学和医学观察中多用透射式，其装置如图所示。



微分干涉差显微镜光路示意图

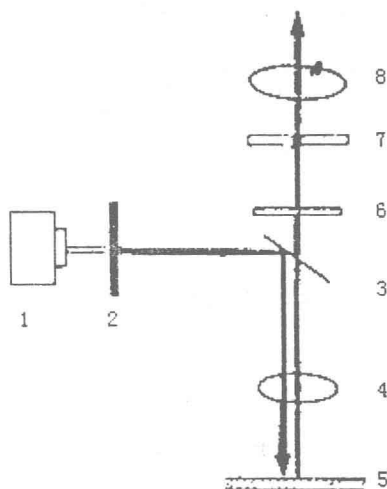
在正交的偏光镜之间，分别在聚光器下方和物镜上方各放置一块渥拉斯顿(Wollaston)棱镜，这是微分干涉差显微镜的基本结构。此后法国物理学家诺曼尔斯基(G. Nomarski)用诺氏棱镜取代了渥氏棱镜，经这样改进后，能够制造出适合不同放大倍数观察的微分干涉差显微镜，称为诺曼尔斯基式微分干涉差显微镜。



微分干涉差显微镜可以观察活的或未染色标本的精细结构,影像具有浮雕感,若以白光照明可以产生彩色影像,称为光染色。此外这种显微镜操作也很方便,所以得到了广泛的应用。

荧光显微镜

以强光激发标本,使标本中的荧光物质产生荧光,用来观察这种荧光的显微镜称为荧光显微镜。荧光显微镜能够观察和分辨标本中产生荧光的成分和位置。



落射式荧光显微镜光路图

1. 光源 2. 激发滤片 3. 双色分光镜
4. 物镜 5. 标本 6. 内插阻断滤片
7. 阻断滤片 8. 目镜



根据激发光照明方式的不同,荧光显微镜可分为透射式和落射式两类,生物学和医学观察中多用落射式荧光显微镜,其光路如图所示。每种荧光物质都有其特定的激发光谱和发射光谱,荧光物质的荧光发射波长长于它的激发波长,并且二者间又有一定的重叠,所以荧光显微镜中,除具有很强的激发光源如氙灯或汞灯外,还具有一套滤片系统,如激发滤片、双色分光镜和阻断滤片等,用以分离开激发光和发射荧光,使能观察到纯荧光,所以使用荧光显微镜时,应根据荧光物质的光谱性质正确地选择滤片。

在生物学和医学的应用中,荧光显微镜能用来观察自发荧光、荧光染料染色荧光、化学物质诱发荧光、免疫荧光和酶诱发荧光等。

显微镜光度术

显微镜光度术是显微镜成像与光度测量相结合的技术。将标本置于载玻片上,通过透射光、荧光、反射光或者光的干涉等方式首先生成清晰的显微镜影像,然后通过光度装置对显微镜下影像的光强度和光谱进行测量和分析。由于所测的光强度和光谱分析与样品中某种成分具有一定的化学计量学关系,所以这种仪器能在光学显微镜的分辨水平上对细胞、细胞器和生物组织的化学成分进行原位的定量分析和光谱分析。