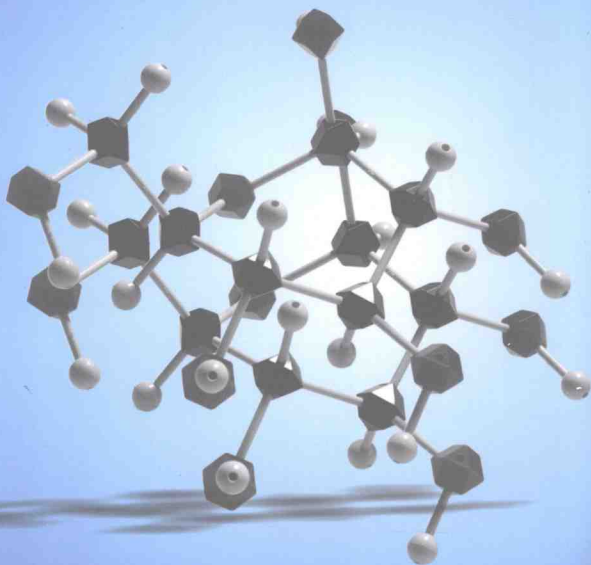


现代生命科学实验

XIANDAISHENGMINGKEXUESHIRAN

主 编 陈兰英 刘瑞芳 赵安芳
副主编 姬晓娜 方改霞 郭端强 刘俊红



河南人民出版社

现代生命科学实验

主 编 陈兰英 刘瑞芳 赵安芳
副主编 姬晓娜 方改霞 郭端强 刘俊红

河南人民出版社

现代生命科学实验

陈兰英 刘瑞芳 赵安芳 主编
河南人民出版社 2009.4

图书在版编目(CIP)数据

现代生命科学实验/陈兰英,刘瑞芳,赵安芳主编. - 郑州:
河南人民出版社,2009.4
ISBN 978-7-215-06826-1

I. 现… II. ①陈…②刘…③赵… III. 生命科学-实验-
高等学校-教材 IV. Q1-0

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 038358 号

河南人民出版社出版发行

(地址:郑州市经五路 66 号 邮政编码:450002 电话:65723341)

新华书店经销 巩义市鑫祥票证印刷厂印刷

开本 880 毫米×1230 毫米 1/16 印张 33.25

字数 856 千字

2009 年 4 月第 1 版 2009 年 4 月第 1 次印刷

定价:49.80 元

内 容 提 要

本书分六篇共二十一章,涵盖了生命科学实验的生物基本实验技术、基础生物学实验、生物无菌实验技术、药学实验技术、生物工程实验技术、生物检验技术等内容。前三篇是基础实验部分,介绍了生命科学基本实验的操作原理和步骤;后三篇是应用部分,介绍了生命科学实验技术在药学、生物工程、生物检验方面的应用。

本书可作为高等学校生物工程、生物技术和药学专业的实验教材,也可供从事相关专业的科技人员使用。

前言

当今世界,科学技术发展突飞猛进,新兴学科、交叉学科不断涌现,科技进步对经济社会的影响作用日益广泛和深刻。伴随着信息科技革命方兴未艾的浪潮,生命科学和生物技术的发展也正在展现出无可限量的前景。越来越多的人已经预见到,一个生命科学的新纪元即将来临,并将对科技发展、社会进步和经济增长产生极其重要而深远的影响。为了适应学科发展的需要,河南城建学院生物工程系在多年实验教学的基础上,组织教师编写了《现代生命科学实验》教材。

《现代生命科学实验》共分六篇,二十一章,涵盖了生命科学实验的生物基本实验技术、基础生物学实验、生物无菌实验技术、药学实验技术、生物工程实验技术、生物检验技术等内容。其实验内容有较大的创新,既系统阐述了实验的基本原理和基本技能,又反映了学科的发展前景,把经典的实验内容与现代科学技术有机结合在一起,改革了原有的实验教学方法和体系,增添了新的实验教学内容。它将在促进生命科学实验教学的发展中起一定的作用。

本书主要由河南城建学院生物工程系教师集体编写而成。书中的第一篇第一章由刘瑞芳、张慧霞(新乡市第一卫生学校)编写,第一篇第二章由王莲哲编写。第二篇第三章由侯玉杰、朱涛编写,第二篇第四章由张红波编写,第二篇第五章由胡建业编写,第二篇第六章由方霞霞编写,第二篇第七章由单林娜编写,第二篇第八章由陈兰英、杨海波编写。第三篇第九章、第十一章和第五篇第十五章的前二个实验由郭端强编写,第三篇第十章和第六篇由姬晓娜编写。第四篇第十二章和第十四章由刘俊红编写,第四篇第十三章由王晓涛编写。第五篇第十五章的后六个实验由李文建编写,第五篇第十六章由万亚涛编写,第五篇第十七章由张现清编写,第五篇第十八章由廖春丽编写。最后由陈兰英、刘瑞芳、赵安芳负责统稿并对某些部分作了一些调整和修改。

本书的编写得到了学校领导和教务部门及本系其他同志的大力支持和帮助,在此一并致以深深地感谢。

本书的编写也是一次改革的尝试,由于我们水平有限,书中缺点和错误在所难免,恳请专家、同仁和读者批评指正。

编者

2008年10月

目 录

第一篇 生物基本实验技术

第一章 生物显微技术	1
实验一 普通光学显微镜的使用(一)——细胞形态结构的观察	1
实验二 普通光学显微镜的使用(二)——细胞大小的测量	8
实验三 普通光学显微镜的使用(三)——生物显微绘图	10
实验四 普通光学显微镜的使用(四)——细胞计数	13
实验五 相差显微镜的使用——活细胞的相差显微镜观察	15
实验六 暗视野显微镜的使用——细胞的暗视野显微镜观察	18
实验七 荧光显微镜的使用——细胞的荧光显微镜观察	19
实验八 偏光显微镜的使用	21
实验九 微分干涉相差显微镜的使用——培养细胞的观测	24
实验十 电子显微镜的使用	26
实验十一 电镜放射自显影技术	29
实验十二 OLYMPUS BH2 系列显微镜与 PM-10AD 显微装置的使用	35
实验十三 胶片的冲洗	38
实验十四 印相和放大	43
第二章 生物制片技术	47
实验十五 石蜡切片法(一)——取材、固定、洗涤、脱水	47
实验十六 石蜡切片法(二)——透明、透蜡、包埋	49
实验十七 石蜡切片法(三)——切片、贴片	51
实验十八 石蜡切片法(四)——染色、封藏	53
实验十九 徒手切片法	55
实验二十 冰冻切片法	56

第二篇 基础生物学实验

第三章 植物生物学实验	59
实验二十一 植物组织的类型	59
实验二十二 花序、果实的类型和种子的结构	60
实验二十三 植物标本的采集和制作	63
实验二十四 植物组织水势的测定	78
实验二十五 植物的溶液培养及缺素培养	80

实验二十六 植物光合速率的测定	82
第四章 动物生物学实验	84
实验二十七 动物细胞的基本形态观察	84
实验二十八 动物的细胞、组织、早期胚胎发育及切片观察	85
实验二十九 软体动物 河蚌的外形和内部解剖	102
实验三十 鱼的外形和解剖	106
实验三十一 两栖纲 外形和解剖	109
实验三十二 鸟纲 鸡的外形和解剖	114
实验三十三 哺乳纲 家兔的外形和解剖	119
第五章 人体解剖生理学实验	127
实验三十四 人体的基本结构观察	127
实验三十五 运动系统结构观察	127
实验三十六 神经传导与肌肉收缩	128
实验三十七 听、视觉传导试验	129
实验三十八 红细胞渗透脆性实验	131
实验三十九 呼吸系统结构观察	134
实验四十 消化系统结构观察	135
第六章 免疫学实验	136
实验四十一 抗原与免疫血清的制备	136
实验四十二 凝集反应	138
实验四十三 沉淀反应	142
实验四十四 免疫标记技术	148
实验四十五 免疫病理试验——动物过敏反应	151
实验四十六 免疫器官、免疫细胞的观察和检测	154
实验四十七 免疫荧光抗体法检查细胞表面抗原	157
实验四十八 酶联免疫吸附实验	158
实验四十九 细胞因子活性检测	162
第七章 遗传学实验	167
实验五十 植物染色体制片技术及有丝分裂	167
实验五十一 减数分裂过程观察	168
实验五十二 果蝇形态、生活史及饲养观察	171
实验五十三 果蝇唾腺染色体观察	173
实验五十四 人外周血淋巴细胞染色体制备及组型分析	175
实验五十五 植物多倍体诱发	178
实验五十六 微核检测技术	179
实验五十七 植物细胞的脱分化和分化培养	182
实验五十八 人类性状的遗传学分析	184
实验五十九 基因检测分析	189

目 录

第八章 细胞生物学实验	196
实验六十 线粒体和液泡系的活体染色及电镜照片观察	196
实验六十一 细胞骨架的显示与观察	199
实验六十二 细胞器的光镜切片和超微结构观察	205
实验六十三 整装培养细胞生物膜系统的标本制备与观察	217
实验六十四 银染核仁形成区的标本制备与观察	218
实验六十五 染色体扫描电镜标本制备与观察	221
实验六十六 细胞核与线粒体的分级分离	223
实验六十七 肿瘤细胞的软琼脂集落培养和测定	226
实验六十八 染色体提前凝聚标本的制备与观察	227
实验六十九 细胞组分的化学反应	228
实验七十 细胞的生理活动	237
实验七十一 细胞凋亡	244

第三篇 生物无菌实验技术

第九章 微生物学实验	251
实验七十二 微生物形态观察	251
实验七十三 微生物显微镜直接计数法	257
实验七十四 水中细菌总数的测定	260
实验七十五 苏云金芽孢杆菌的复壮	263
实验七十六 微生物接种技术与扩大扩培	265
实验七十七 微生物菌种保藏	270
实验七十八 微生物染色	275
实验七十九 培养基的制备和灭菌	278
实验八十 微生物的分离和纯化	284
实验八十一 大分子物质的水解试验	289

第十章 食用菌学实验	293
实验八十二 试管培养基、母种培养基制备与接种培养	293
实验八十三 袋栽培养基、液体培养基制备与接种培养	295
实验八十四 食用菌菌种分离法	297
实验八十五 平菇的栽培	300
实验八十六 木耳的栽培	301
实验八十七 香菇的栽培	303

第十一章 微生物遗传与育种实验	307
实验八十八 紫外线对细菌的诱变作用	307
实验八十九 紫外线对枯草芽孢杆菌产生淀粉酶的诱变效应	309
实验九十 用梯度平板法筛选大肠杆菌抗药性菌株	311
实验九十一 大肠杆菌营养缺陷型菌株的筛选	314
实验九十二 细菌的原生质体制备及融合	317

实验九十三 酵母菌的原生质体制备、融合、育种	320
实验九十四 赖氨酸高产菌株的诱变选育	322

第四篇 药学实验技术

第十二章 药学基础实验	326
实验九十五 实验动物的给药途径和方法	326
实验九十六 不同给药途径对药物作用的影响	333
实验九十七 药物的基本作用实验	334
实验九十八 氯丙嗪的安定和抗激怒反应作用	335
实验九十九 强心苷对离体蛙心的作用	336
实验一百 利尿药对尿量和尿中氯离子浓度的影响	337
实验一百零一 肝功能状态对药物作用的影响	339
实验一百零二 有机磷药物的中毒及解救	340
实验一百零三 磺胺类药物对肾脏的毒性作用	341
实验一百零四 联合用药引起的药物相互作用	342
实验一百零五 药物半数致死量 (LD_{50}) 的测定	344
实验一百零六 药物最大耐受量 (MTD) 的测定	346
实验一百零七 药物刺激实验	347
实验一百零八 药物的溶血实验	351
实验一百零九 药物的过敏实验	352
实验一百一十 剂量对药物作用的影响	358
第十三章 药学分析实验	367
实验一百一十一 葡萄糖杂质检查	367
实验一百一十二 复方乙酰水杨酸片的含量测定	369
实验一百一十三 紫外分光光度法测定对乙酰氨基酚片的含量	370
实验一百一十四 药物制剂 (片剂) 的常规检查	371
实验一百一十五 复方制剂 (复方阿司匹林) 的含量测定	373
实验一百一十六 维生素 E 胶丸的含量测定	374
实验一百一十七 对氨基水杨酸钠稳定性实验	375
实验一百一十八 大黄中蒽醌类成分的提取分离和鉴定	376
实验一百一十九 阿司匹林 (Aspirin) 的合成	380
实验一百二十 磺胺嘧啶一次性静脉给药后的药时曲线	381
实验一百二十一 维生素 C 定量测定	383
实验一百二十二 安乃近的定性测定	385
实验一百二十三 3P87 计算药物动力学参数	386
实验一百二十四 硫酸阿托品片的含量测定	389
实验一百二十五 氯霉素的检测 (HPLC)	390
第十四章 生物技术制药实验	392
实验一百二十六 猪胰胰岛素的制备	392

目 录

实验一百二十七	基因工程药物工程菌的制备	393
实验一百二十八	液体发酵法生产链霉素	395
实验一百二十九	β -半乳糖苷酶的固定化及应用	399
 第五篇 生物工程实验技术 		
第十五章 细胞工程实验		405
实验一百三十	愈伤组织诱导和继代培养	405
实验一百三十一	器官发生与植株再生培养	408
实验一百三十二	细胞悬浮培养	410
实验一百三十三	植物原生质体分离与体细胞杂交	411
实验一百三十四	植物茎尖脱毒技术	412
实验一百三十五	细胞原代培养	413
实验一百三十六	细胞传代培养	415
实验一百三十七	动物细胞融合	416
 第十六章 基因工程实验		418
实验一百三十八	溶液配制和实验材料的准备	418
实验一百三十九	总 DNA 的提取	419
实验一百四十	琼脂糖凝胶的制备和电泳	420
实验一百四十一	目的基因的 PCR 扩增	422
实验一百四十二	感受态细胞的制备	423
实验一百四十三	重组质粒的转化	424
实验一百四十四	重组体的筛选检测	425
实验一百四十五	重组子的筛选鉴定	426
实验一百四十六	Southern 印迹杂交法	426
实验一百四十七	Northern 印迹杂交法	428
 第十七章 发酵工程实验		430
实验一百四十八	酒精发酵及酒曲中酵母菌的分离	430
实验一百四十九	发酵酸乳的制作	431
实验一百五十	啤酒的实验室酿造	433
实验一百五十一	啤酒、葡萄酒质量品评	435
实验一百五十二	葡萄酒的酿制	440
实验一百五十三	酒酿中根霉的分离与甜酒酿的制作	443
实验一百五十四	糖化曲的制备及其酶活力的测定	445
实验一百五十五	白酒勾兑与品评	447
实验一百五十六	土霉素摇瓶发酵实验	449
实验一百五十七	谷氨酸发酵中生物素添加量的优化试验	452
实验一百五十八	发酵污染的检测与判别	455
试验一百五十九	泡菜的制作及其观察	456

实验一百六十	糖化酶摇瓶发酵实验	458
实验一百六十一	小型自控发酵罐的操作及应用	458
实验一百六十二	淀粉水解糖的制备	463
试验一百六十三	牛奶的喷雾干燥及喷雾干燥器的使用	465
实验一百六十四	酵母菌等单细胞微生物生长曲线的测定	466
实验一百六十五	双歧杆菌等厌氧菌的分离、培养及活菌计数	467
实验一百六十六	毛霉的分离和豆腐乳的制作	470
实验一百六十七	流加发酵动力学研究	471
第十八章	生物工程下游技术	475
实验一百六十八	发酵液中的固液相分离	475
实验一百六十九	发酵液残氮含量的分析	476
实验一百七十	离子交换层析	478
实验一百七十一	下游提取中的真空蒸馏操作	479
实验一百七十二	摇瓶发酵过程曲线的测定	480
实验一百七十三	最佳发酵培养基的确定	481
实验一百七十四	凝胶层析测定蛋白质的分子量	482
实验一百七十五	盐析沉淀	484

第六篇 生物检验技术实验

第十九章	食品卫生学检验实验	486
实验一百七十六	火腿肠中亚硝酸盐的测定	486
实验一百七十七	酒中甲醇测定	487
实验一百七十八	鲜乳中抗生素残留量的检验	488
实验一百七十九	索氏脂肪提取	490
第二十章	动植物检疫技术	492
实验一百八十	种苗带病检验技术	492
实验一百八十一	动植物检疫图像信息系统使用	494
第二十一章	微生物检验技术	499
实验一百八十二	细菌的特殊染色	499
实验一百八十三	生物因素对微生物生长的影响	502
实验一百八十四	细菌鉴定中常用的生理生化试验	503
实验一百八十五	牛乳中细菌的检查	508
实验一百八十六	用选择性培养基分离土壤中的固氮菌、酵母菌和真菌	511
实验一百八十七	食品中淀粉分解菌的检查	513
实验一百八十八	食品中细菌总数测定	514
实验一百八十九	食品中大肠菌群测定	516

第一篇 生物基本实验技术

第一章 生物显微技术

实验一 普通光学显微镜的使用（一）——细胞形态结构的观察

一、实验目的

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

二、实验原理

细胞是生物体的基本结构和功能单位，细胞的大小差别很大，有的用肉眼就能看到，如鸵鸟卵黄直径可达5cm。最小的支原体仅有0.1 μ m。一般而言，真核细胞的体积要大于原核细胞，高等动物的卵细胞大于体细胞，这是因为卵细胞含有许多供胚胎发育使用的营养物质——卵黄，而使细胞的体积增长了许多倍。对于大多数生物的细胞来说，其体积一般在20~30 μ m之间，大多必需借助于光学显微镜或电子显微镜才能被观察到。细胞大多体积小，计量单位一般用微米（micron, μ m）和纳米（nanometer, nm）等。

光学显微镜（light microscope）是生物科学和医学研究领域常用的仪器，它在细胞生物学、组织学、病理学、微生物学及其他有关学科的教学研究工作中有着极为广泛的用途，是研究人体及其他生物机体组织和细胞结构强有力的工具。

光学显微镜简称光镜，是利用光线照明使微小物体形成放大影像的仪器。目前使用的光镜种类繁多，外形和结构差别较大，有些类型的光镜有其特殊的用途，如暗视野显微镜、荧光显微镜、相差显微镜、倒置显微镜等，但其基本的构造和工作原理是相似的。一台普通光镜主要由机械系统和光学系统两部分构成，而光学系统则主要包括光源、反光镜、聚光器、物镜和目镜等部件。

光镜是如何使微小物体放大的呢？物镜和目镜的结构虽然比较复杂，但它们的作用都是相当于一个凸透镜，由于被检标本是放在物镜下方的1~2倍焦距之间的，上方形成一倒立的放大实相，该实相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。

分辨力是光镜的主要性能指示。所谓分辨力（resolving power）也称为分辨率或分辨本领，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 μ 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, 分辨率越高) 可以下式计算:

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

这里n为聚光镜与物镜之间介质的折射率(空气为1、油为1.5); θ 为标本对物镜镜口张角的半角, $\sin$ 的最大值为1; λ 为照明光源的波长。放大率或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。

三、实验用品

1. 器材

(1) 普通光学显微镜 (2) 擦镜纸

2. 试剂和材料

(1) 香柏油或液体石蜡(石蜡油) (2) 羊毛交叉装片 (3) 英文字母或数字的装片
(4) 兔肝细胞苏木精-伊红染色标本 (5) 念珠藻(*Nostoc Communae*) 细胞玻片标本 (6) 清洁剂(乙醚7份+无水乙醇3份) (7) 二甲苯

四、实验方法与步骤

(一) 光学显微镜的基本构造及功能

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, 光镜可分为单筒式或双筒式两类。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度角, 在其镜筒中装有能使光线折转45度的棱镜。

(2) 物镜转换器 又称物镜转换盘。是安装在镜筒下方的一圆盘状构造, 可以按顺时针或反时针方向自由旋转。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。转动物镜转换盘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。

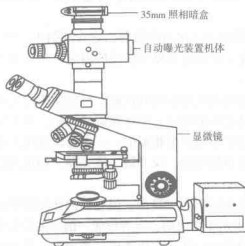


图 1-1-1A Olympus 显微镜 (BHS 型)

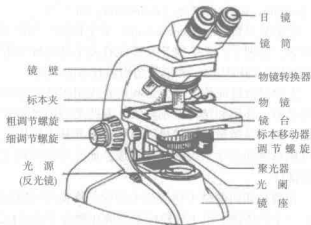


图 1-1-1B 光学显微镜的构造

(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度, 否则显微镜则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,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的升降,能迅速调节好焦距使物像呈现在视野中,适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的升降(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。

在标本移动器上一般还附有纵横游标尺,可以计算标本移动的距离和确定标本的位置。游标尺一般由主标尺(A)和副标尺(B)组成。副标尺的分度为主标尺的 $9/10$ 。使用时先看到标尺的0点位置,再看主副标尺刻度线的重合点即可读出准确的数值。



图1-1-2 游标尺的使用方法示意图

(6) 镜柱 为镜臂与镜座相连的短柱。

(7) 镜座 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。有的显微镜在镜座内装有照明光源等构造。

2. 光学系统部分

光镜的光学系统主要包括物镜、目镜和照明装置(反光镜、聚光器和光圈等)。

(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圈——视场光圈,此光圈的位置即是物镜所放大实像的位置,故可将一小段头发粘附在光圈上作为指针,用以指示视野中的某一部分供他人观察。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2~3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3~4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,决定着光镜分辨

力的高低。常用物镜的放大倍数有10 $\times$ 、40 $\times$ 和100 $\times$ 等几种。一般将8 $\times$ 或10 $\times$ 的物镜称为低倍镜(而将5 $\times$ 以下的叫做放大镜);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)。

在每个物镜上通常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),该物镜所要求的镜筒长度和标本上的盖玻片厚度(160/0.17,单位mm)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、1.46,空气为1),可减少光线的折射,增加视野亮度,提高分辨率。物镜分辨率的大小取决于物镜的数值孔径(numeral aperture, N.A.), N.A.又称为镜口率,其数值越大,则表示分辨力越高。

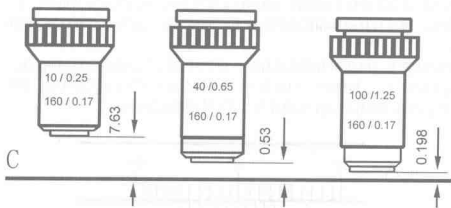


图1-1-3 物镜的性能参数及工作距离

C线为盖玻片的上表面,10 $\times$ 物镜的工作距离为7.63mm;40 $\times$ 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字孔径。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。

不同的物镜有不同的工作距离。所谓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。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。

不同放大倍数的物镜也可从外形上加以区别,一般来说,物镜的长度与放大倍数成正比,低倍镜最短,油镜最长,而高倍镜的长度介于两者之间。

表1-1-1 标准物镜的性质

放大倍数	数字孔径	工作距离 (mm)
10	0.20	6.5
20	0.50	2.0
40	0.65	0.6
100	1.25	0.2

(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，其主要功能是光线集中到所要观察的标本上。聚光镜由2~3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。

光圈也称为彩虹圈或孔径光圈，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圈。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。

(4) 反光镜：位于聚光镜的下方，可向各方向转动，能将来自不同方向的光线反射到聚光器中。反光镜有两个面，一面为平面镜，另一面为凹面镜，凹面镜有聚光作用，适于较弱光和散射光下使用，光线较强时则选用平面镜（现在有些新型的光学显微镜都有自带光源，而没有反光镜；有的二者都配置）。

(二) 光学显微镜的使用方法

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壁，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约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度）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（以聚光镜上端透镜平面稍低于载物台平面的高度为宜）。然后用左眼向着目镜内观察（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），直至低倍镜头距玻片标本的距离小于0.6cm（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）。然后用左眼在目镜上观察，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为止，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。在调焦时如果镜头与玻片标本的距离已超过了1cm还未见到物像时，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，应先用低倍镜寻找到需观察的物像，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，视野中一般可見到不太清晰的物像，只需调节细调螺旋，一般都可使物像清晰。

请注意:

(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以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) 由于制造工艺上的原因, 许多显微镜的低倍镜视野中心与高倍镜的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用在高倍镜下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。当光镜的偏心点找出之后, 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。

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) 转动物镜转换盘, 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)滴一滴香柏油(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, 再用沾有少许清洁剂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, 如果是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, 再往纸上滴几滴清洁剂或二甲苯。趁湿将纸往外拉, 如此反复几次即可干净。

(三) Olympus显微镜观察的操作顺序(以BHS为例, 图1-1-1A)

1. 将电源开关置于ON的位置。
2. 电压调至7~9V。
3. 将LBD-2滤色镜放入灯室的窗口, 根据亮度选用适当的ND滤色镜放入灯架一侧。
4. 把标本放在载物台上。
5. 用物镜(10x)对准焦点。
6. 调节双目镜筒的间距, 以适合观察者眼瞳, 同时调整两眼的屈光度。
7. 缩小视场光栏(约视场的1/3)。
8. 将聚光镜上下移动调节, 对准视场光束焦点。