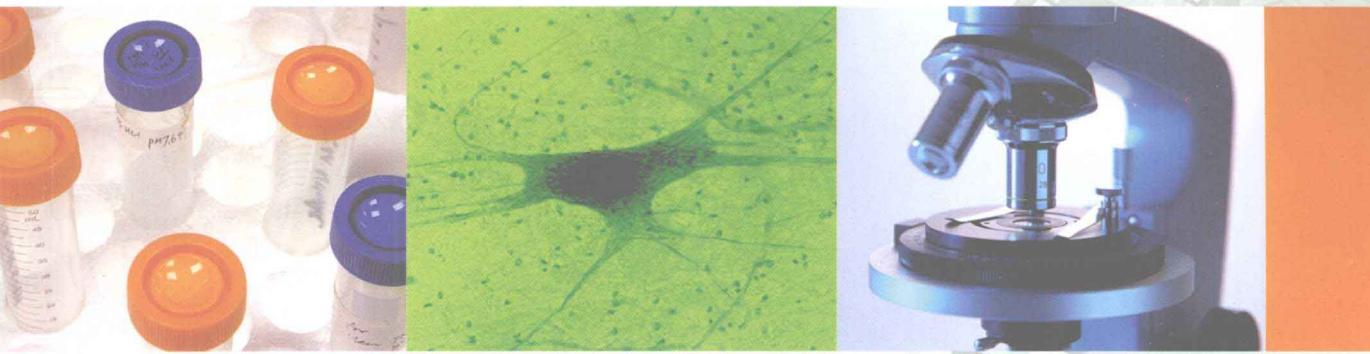


高等医药学校实验系列教材

EXPERIMENTS IN MEDICAL  
CELL BIOLOGY

# 医学细胞生物学 实验教程

赵刚 主编

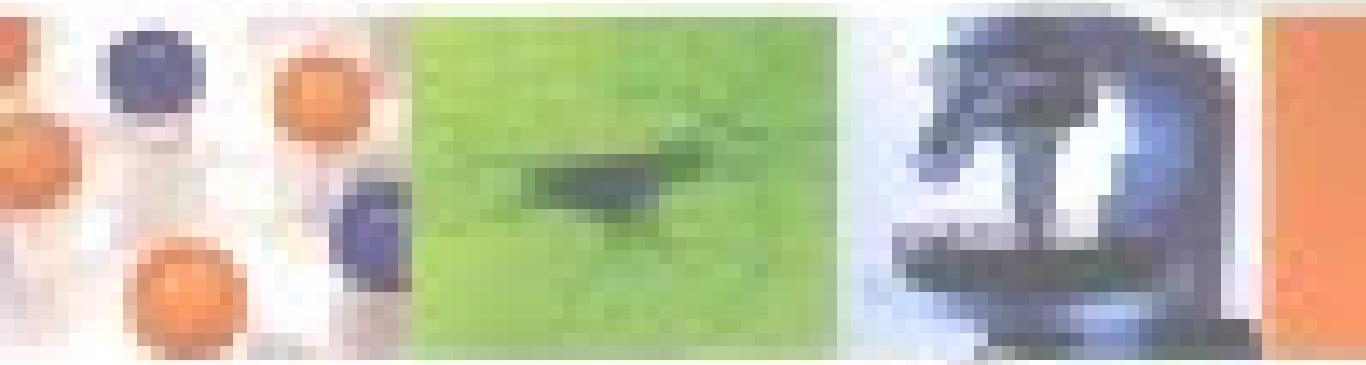




细胞生物学实验教材

细胞生物学实验教材

# 医学细胞生物学 实验教程



• 高等医药学校实验系列教材 •

# 医学细胞生物学实验教程

赵 刚 主编

科学出版社

北京

## 版权所有，侵权必究

举报电话：010-64030229；010-64034315；13501151303

## 内 容 简 介

本书是细胞生物学的实验课教材，共选编了 16 个实验，其中既有经典的细胞生物学实验内容，又有反映现代细胞生物学发展水平的高技术项目，先进性和实用性兼具。书中特别融入了作者多年来对部分实验技术与方法的改进，以及一些有价值的经验。所编入的每个实验都有相关的基础知识和背景资料，对实验原理和步骤的说明也力求详尽，同时配有大量的插图以使读者能较快掌握实验原理和操作技巧。

本书适用于高等医学院校细胞生物学课程的实验教学，也可供综合性院校、师范院校和农业院校相关专业的细胞生物学实验课使用。

### 图书在版编目(CIP)数据

医学细胞生物学实验教程/赵刚主编. —北京：科学出版社, 2008  
(高等医药学校实验系列教材)  
ISBN 978 - 7 - 03 - 023005 - 8

I. 医… II. 赵… III. 人体细胞学：细胞生物学—实验—教材  
IV. R329.2 - 33

### 中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 142118 号

责任编辑：张颖兵/责任校对：梅 莹  
责任印制：彭 超/封面设计：苏 波

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>

武汉科利德印务有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2008 年 9 月第 一 版 开本：787×1092 1/16  
2008 年 9 月第一次印刷 印张：10 1/4  
印数：1—3 000 字数：231 000

定价：20.00 元

(如有印装质量问题，我社负责调换)

# 《医学细胞生物学实验教程》编委会

主编：赵刚

副主编：刘江东 顾海 倪娅

编委（以姓氏笔画为序）：

冯秋珍 刘江东 米丽华

赵刚 赵凤鸣 姜海英

顾海 倪娅 徐云丹

## 前　　言

众所周知,细胞生物学是当今生命科学领域发展最快的学科之一,几十年来,该学科产生了众多的新理论和新技术,对医学的发展起到了很大的推动作用。随着细胞生物学与医学关系的日益密切,细胞生物学理论和技术已经广泛地渗透到了基础医学和临床医学研究的各个领域,对揭示疾病发生的细胞学机理起到了重要作用。因此,作为医学各专业的本科生,掌握一定的细胞生物学基本理论和研究技术,对疾病发生与药物作用等机理的掌握以及知识结构的完善有着重要意义。在这种背景下,近 20 年来,国内的高等医学院校先后开设了细胞生物学课程,细胞生物学的教学已成为高等医学教育课程体系中的一个重要内容。

细胞生物学是一个实践性很强的学科。从历史上看,该学科中每项新成果的取得和新理论的建立都离不开实验研究。所以,对于细胞生物学的教学来说,实验是一个重要的组成部分,它可以使学生获得细胞结构与细胞各种生命活动的感性认识,培养和训练大家进行实验研究的基本技能,同时还可以有效地提高理论课的教学效果。对于细胞生物学实验课的教学来说,一本实用的实验指导是不可缺少的基本条件。然而,与理论课的教材相比,目前国内出版的供高等医学院校使用的细胞生物学实验教材的品种偏少,不能很好地满足教学的需求。为了给高等医学院校的细胞生物学实验课教学提供一本科学性、实用性俱佳的教科书,我们几所高等学校长期从事细胞生物学教学的教师们共同编写了这本实验教材。在编写过程中,我们注意阐明每项实验和一些关键步骤的基本原理和相关背景知识,使学生能够较全面地了解实验中所涉及的理论问题。同时,在实验操作步骤的叙述上力求详尽,以方便学生独立完成实验项目。

全书共编入了 16 个重要的细胞生物学实验项目,从内容的选择上,既有细胞生物学的经典实验,又有反映该学科现代发展水平的实验技术,并注意了与医学的结合。具体的

内容包括普通光学显微镜的结构与使用、透射电镜工作原理与超薄切片技术细胞的显微摄影技术、细胞形态结构与细胞器的观察、细胞骨架和细胞超微结构观察、细胞化学成分的显示、细胞生理活动的观察、细胞核与线粒体的分离、小鼠染色体标本的制备与观察、人染色体标本的制备、人染色体上 NOR 的银染显示、细胞分裂的观察、荧光原位杂交技术显示人染色体端粒、哺乳动物细胞的体外培养技术、人与动物基因组 DNA 的制备与电泳检测,以及 PCR 方法扩增人 SRY 基因的片段。鉴于各院校在教学课时和实验条件上存在较大差异,使用本书时可根据各自的条件选择实施书中实验项目。

参加本书编写的教师有武汉大学生命科学学院的刘江东;南京中医药大学的顾海、赵凤鸣和姜海英;山西医学院的米丽华;湖北中医院的赵刚、冯秋珍、倪娅和徐云丹等。赵刚负责了本书初稿的修改和全书的统稿工作。全书插图的技术性处理由徐云丹负责完成。在本书编写过程中得到了编者所在院校和科学出版社的大力支持,湖北中医院的基础医学院和医学生物学教研室对本书的编写提供了很多的方便,在此一并表示衷心地感谢。鉴于水平和时间所限,本书可能还存在一些不足和缺陷,恳请读者能够给予指正。

谨以此书献给湖北中医院黄家湖新校区落成暨建校 50 周年。

赵刚

2008 年 8 月 8 日于武汉市黄家湖畔

# 目 录

前 言 .....	1
实验一 普通光学显微镜的结构与使用 .....	1
实验二 透射电镜工作原理与超薄切片技术 .....	13
实验三 细胞的显微摄影技术 .....	24
实验四 细胞形态结构与细胞器的观察 .....	33
实验五 细胞骨架和细胞超微结构的观察 .....	42
实验六 细胞化学成分的显示 .....	49
实验七 细胞生理活动的观察 .....	58
实验八 细胞核与线粒体的分离 .....	64
实验九 小鼠染色体的制备与观察 .....	67
实验十 人染色体标本制备 .....	72
实验十一 人染色体 NOR 的银染显示 .....	80
实验十二 细胞分裂的观察 .....	83
实验十三 荧光原位杂交技术显示人染色体端粒 .....	89
实验十四 哺乳动物细胞的体外培养技术 .....	96
实验十五 人与动物基因组 DNA 的制备与电泳检测 .....	116
实验十六 PCR 方法扩增人 SRY 基因的片段 .....	128
参考文献 .....	137
附 录 .....	138

# 实验一 普通光学显微镜的结构与使用

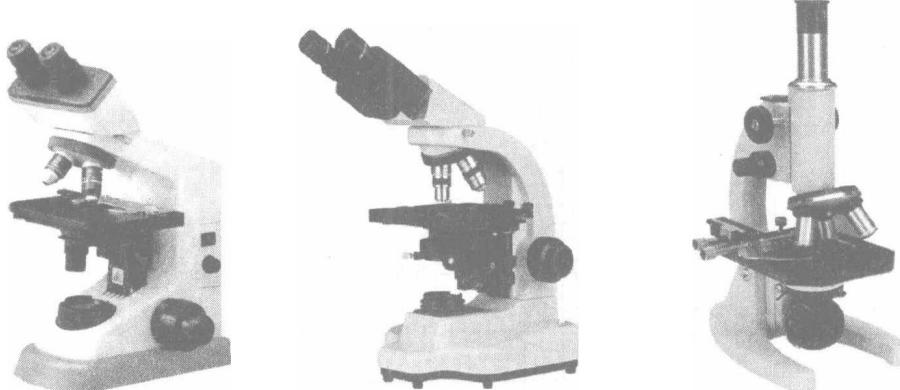
## 【目的要求】

- (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。

## 【实验原理】

光学显微镜(light microscope)简称显微镜或光镜,是利用光线照明使微小物体形成放大影像的仪器。显微镜的发明和使用已有400多年的历史。1590年前后,荷兰的汉斯(Hans)父子创制了放大10倍的原始显微镜。1665年英国物理学家虎克(Hooke)研制出性能较好的显微镜并用它发现了细胞。400多年来,经不断改进,显微镜的结构和性能逐步完善,形成了品种繁多、型号各异的光学显微镜系列(图1-1)。除了广泛使用的普通光镜外,还有相差显微镜、暗视野显微镜、荧光显微镜(图1-2)和倒置显微镜(图1-3)等特殊功能或用途的光镜。

形形色色的光学显微镜虽然外形和结构差异较大,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,而作为显微镜核心部分的光学系统则主要包括光源物镜、目镜、聚光镜和光源等部件。



NIKON-YS100型显微镜

江南XS-402型显微镜

江南XSP-12型显微镜

图1-1 光学显微镜的外观与型号举例

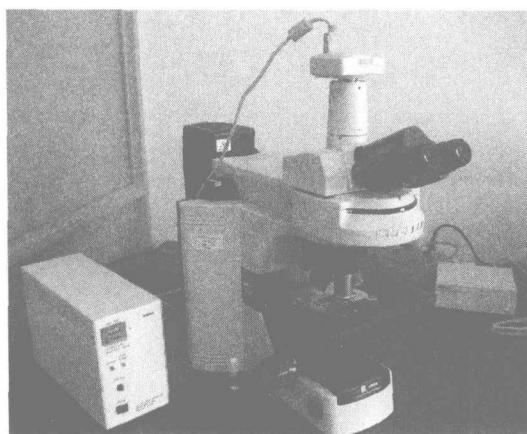


图 1-2 荧光显微镜(Nikon 80i 型)



图 1-3 倒置显微镜(Olympus CK40 型)

那么,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,但它们的作用都相当于一个凸透镜,由于被检标本是放在物镜下方的 $1\sim 2$ 倍焦距之间的,故物镜可使标本在物镜的上方形成一个倒立的放大实像,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 25 cm 处(图 1-4)。

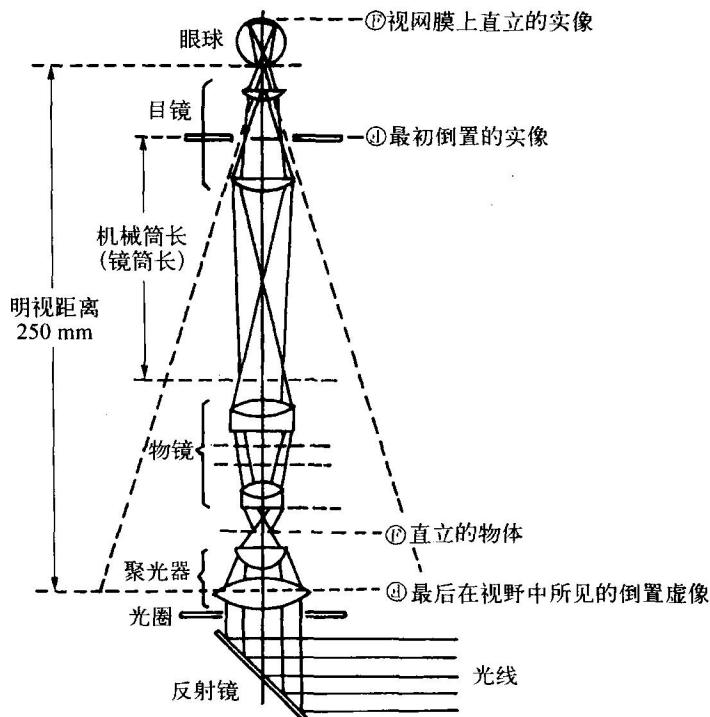


图 1-4 光学显微镜的放大原理及光路图

一台显微镜的性能和质量的高低可由其多个方面的指标来反映,包括分辨率、放大率、镜口率、焦点深度和视场宽度等性能指标。这些性能都有一定限度,彼此既相互作用又相互制约,改善或提高某方面的性能,往往会使另一性能降低。

分辨率(resolving power)也称分辨本领,是光镜最重要的性能指标,是指显微镜或人眼在25 cm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,人眼的分辨率约为100 μm,而光镜的分辨率可达0.2 μm。显微镜的分辨率由物镜的分辨率决定,物镜的分辨率就是显微镜的分辨率,而目镜与显微镜的分辨率无关,它只将物镜已分辨的影像进行第二次放大。光镜的分辨率

$$R = \frac{0.61\lambda}{NA} = \frac{0.61\lambda}{n \cdot \sin \alpha/2}$$

式中,λ为照明光源的波长,白光约为0.5 μm;NA为镜口率;n为介质的折射率,最大值为1.5;α为镜口角,sin α/2的最大值为1。将这些数值代入公式,得到光镜的最大分辨率为 $R=0.61\times0.5\mu\text{m}/1.5=0.2\mu\text{m}$ 。

镜口率即数值孔径(numerical aperture, NA),是直接决定显微镜分辨率的一个重要参数。NA等于物镜和被检样品之间的介质的折射率n与物镜所接受光锥的顶角α(即镜口角)一半的正弦值的乘积,用公式表示为 $NA = n \cdot \sin \alpha/2$ 。

镜口角α指位于物镜光轴上标本的一个点发出的光线延伸到物镜前透镜的有效直径的两端所形成的夹角(即标本对物镜镜口张角的半角)。物镜与标本之间介质的折射率,空气为1,水为1.33,油为1.5左右。

从NA的公式可以得知,镜口角越大,进入物镜的光线越多;介质的折射率越大,则数值孔径越大。一般来说,干燥物镜(以空气为介质)的NA值为0.05~0.95,水浸物镜为0.10~1.20,油浸物镜(油镜)为0.83~1.40。

物镜的数值孔径决定一台显微镜的主要光学能力,NA与分辨率成正比,NA越大,显微镜的能力越强,但NA与焦点深度(即当显微镜对标本的某一点或平面准焦时,焦点平面上下影像清晰的距离或范围)成反比。各种物镜的数值孔径数值一般标刻在其外壳上。

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。常用显微镜的最大放大倍数一般为1600倍。

光学显微镜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科研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。

### 【器材与试剂】

普通光学显微镜、擦镜纸、香柏油或液体石蜡(石蜡油)、血涂片、羊毛交叉装片、英文字母或数字装片、清洁剂(乙醚7份+无水乙醇3份)。



## 【内容与方法】

### 一、光学显微镜的基本构造及功能

#### (一) 机械部分

##### 1. 镜筒

镜筒(tube)为安装在光镜最上方或镜臂前方的圆筒状结构(图 1-5 和 1-6),其上端

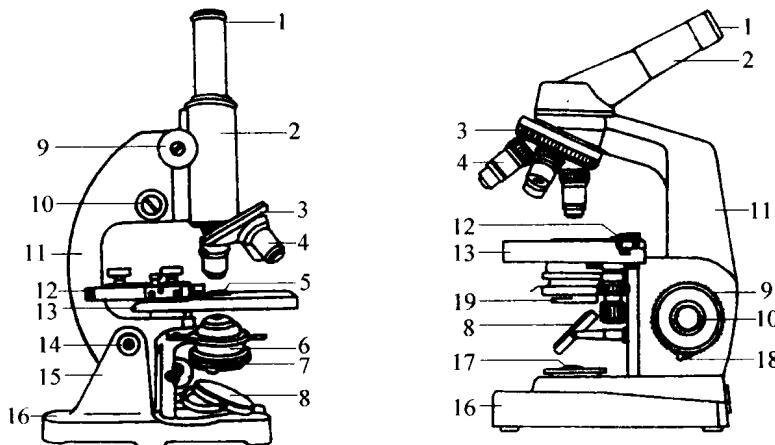


图 1-5 普通光学显微镜结构示意图

- 1. 目镜; 2. 镜筒; 3. 物镜转换器; 4. 物镜; 5. 通光孔; 6. 聚光器; 7. 光圈; 8. 反光镜;
- 9. 粗调节器; 10. 细调节器; 11. 镜臂; 12. 移片器; 13. 载物台; 14. 倾斜关节;
- 15. 镜柱; 16. 镜座; 17. 照明装置; 18. 粗调限位环凸柄; 19. 滤光片框

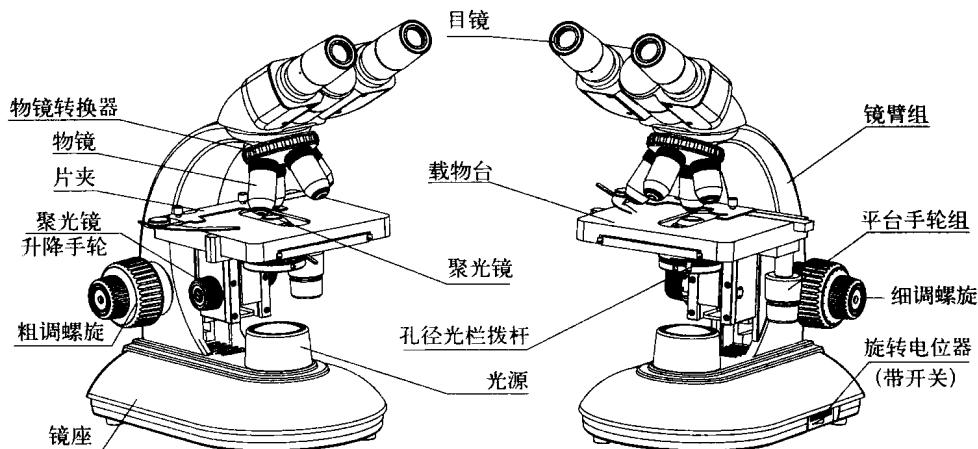


图 1-6 带电光源新型光镜的结构图(重庆奥特 B-203 型)

可装载目镜，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。镜筒直立式光镜与物镜的中心线（光轴）在同一直线上，而镜筒倾斜式光镜的目镜与物镜的中心线互成 $45^{\circ}$ 角，在其镜筒中装有能使光线转折 $45^{\circ}$ 的棱镜。

## 2. 物镜转换器

物镜转换器（revolving nose-piece）又称旋转盘，是安装在镜筒下方的一圆盘状构造，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。转动旋转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。

## 3. 镜臂

镜臂（arm）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 $45^{\circ}$ ，否则显微镜由于重心偏移容易翻倒。

## 4. 调焦器

调焦器（focusing adjustment）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焦距的精细调节，也常用于观察标本的不同层次，一般在粗调螺旋调焦的基础上使用。

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。在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

载物台（stage）也称平台，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（也称移片器），移片器上安装的弹簧夹可用于固定玻片标本，转动移片器的两个螺旋可使玻片标本前后左右地移动，寻找目标较为方便。

在移片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（图1-7）。副标尺的分度为主

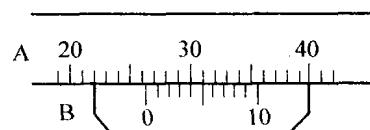


图1-7 游标尺的用法



标尺的 9/10。使用时先看副标尺的 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 1-7 中所示的数值应为 26.4 mm。

## 6. 镜柱

镜柱(post)位于光镜的下方,是将镜臂与镜座相连的短柱。

## 7. 镜座

镜座(base)位于最底部的构造,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。

## (二) 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

目镜(ocula)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,此光阑的位置即是物镜所放大实像的位置,故可将一小段细金属丝或头发粘附在光阑上作为指针,用以指示视野中的某一部分供他人观察。另外,还可在光阑的面上安装目镜测微尺。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×、10× 和 15×(× 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× 目镜。

### 2. 物镜

物镜(objective)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×、40× 和 100× 等几种。一般将 8× 或 10× 的物镜称为低倍镜(而将 5× 以下的叫做放大镜);将 40× 或 45× 的称为高倍镜;将 90× 或 100× 的称为油镜(这种镜头在使用时其顶端需浸在镜油中)。

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),以及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(图 1-8)。另外,在油镜上还常标有“油”或“oil”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 1.46,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,其数值越大,则表示分辨率越高。

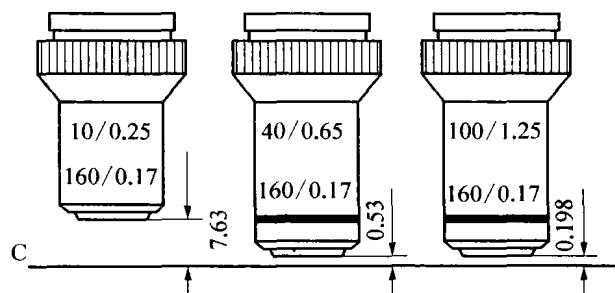


图 1-8 物镜的性能参数及工作距离

C 线为盖玻片的上表面, 10×物镜工作距离为 7.63 mm; 40×物镜为 0.53 mm; 100×物镜为 0.198 mm(XSB - 02 型显微镜)。10/0.25、40/0.65、100/1.25 表示镜头放大倍数和数值孔径。160/0.17 表示显微镜机械镜长(标本至目镜的距离)和标准盖玻片厚度, 即镜长 160 mm, 盖片厚度 0.17 mm。

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(表 1-1)。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, 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 标准物镜的性质

放大倍数	数值孔径	工作距离/mm	放大倍数	数值孔径	工作距离/mm
10×	0.20	6.5	40×	0.65	0.6
20×	0.50	2.0	100×	1.25	0.2

不同的物镜, 镜头内透镜的直径有很大的差异, 低倍镜的透镜最大, 可透过的光线最多; 油镜的透镜直径最小, 能透过的光线最少; 而高倍镜则介于两者之间。因此, 在使用三种镜头时, 应该注意调节光圈的大小, 使视野中的光线和亮度处于合适的状态。显然, 使用低倍镜时所需的光圈最小; 而使用油镜时需要的光圈最大(图 1-9)。

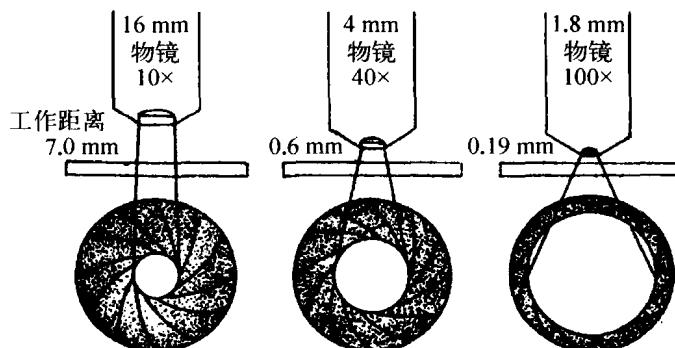


图 1-9 物镜的透镜的直径与所需光圈大小的关系示意图



### 3. 聚光器

聚光器(condenser)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2~3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。

光圈也称为彩虹光阑或孔径光阑,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。

### 4. 反光镜或内置电光源

老式的显微镜多利用玻璃反光镜(reflection mirror)采集光线。反光镜安装在聚光镜的下方,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。

目前国内大多数高等医学院校的相关实验室一般都配置了较新型的内置电光源的光学显微镜(去掉了玻璃反光镜)。内置光源显微镜调节光线的强弱非常方便,可通过一个可调电阻(电位器)调节电压的高低从而改变灯泡的亮度来实现显微镜视野亮度的调节。

## 二、光学显微镜的使用方法

### (一) 准备工作及观察要求

(1) 将显微镜从实验台下面的柜中或木箱中小心地取出,放置在自己座位前面的实验台上,以镜座后端离实验台边缘约3~6 cm为宜。如果需要较长距离移动显微镜时,应以右手握住镜臂,左手托住镜座的方式搬运。

(2) 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以方便观察。但倾斜一般不应超过45°,否则显微镜重心不稳,易发生倾倒。

(3) 使用双目显微镜时,应该用双眼同时观察视野;双手同时操作镜上的调节装置。一般用左手调节焦距,而用右手操作标本移动尺移动玻片。

(4) 调整瞳距。瞳距(眼间距)因人而异,所以使用双目显微镜时,应调整显微镜的两个目镜之间的距离。调节时,两眼看着视野,双手分别握住两个目镜的基部上下搬动或左右移动(图1-10),直至双目分别看到的视野重合成一个。换句话说,调节好以后,两眼同时看到的是一个视野。

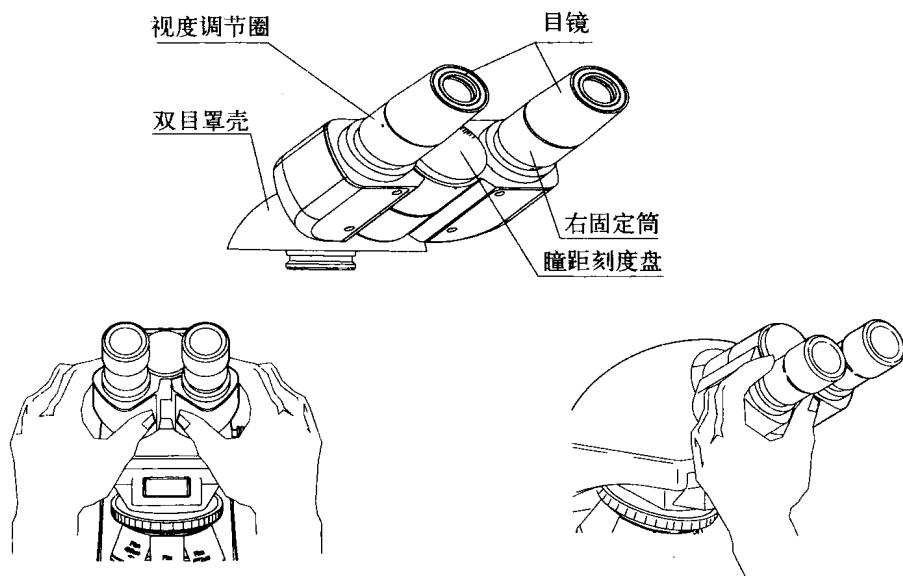


图 1-10 双目瞳距调整与视度调节

(5) 视度(屈光度)调节：双目观察调焦时，应先以右筒、右眼观察，使右筒调焦清晰，再从左筒观察，同时调节左筒上的视度(屈光度)调节圈以补偿两眼视度上的差异，使左筒成像与右筒同样清晰。

## (二) 低倍镜的使用方法

### 1. 调光

对于内置光源的双目显微镜来说，先打开镜座上的电源开关，转动粗调螺旋使载物台下降；再转动物镜转换器，使低倍镜(细胞学实验一般用 10 倍的)对准载物台中央的通光孔；调节聚光器使其上升到中间位置，拨动聚光器上的光圈手柄，也使其开到中间位置；双眼分别对准目镜观察视野，进一步调节电压，使视野中的光线均匀，亮度适中。

对于单目显微镜来说，先转动反光镜使之朝向光源或开启显微镜座上的电源开关，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(即对准载物台的通光孔)，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(注意勿闭右眼)，同时调节反光镜的方向，使视野内的光线均匀、亮度适中。

### 2. 放片

取一张玻片标本，先对着光线用肉眼观察标本的全貌和位置，再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，注意使有盖玻片或标签的一面朝上。然后转动移片器的螺旋，使需要观察的标本部位对准物镜。