



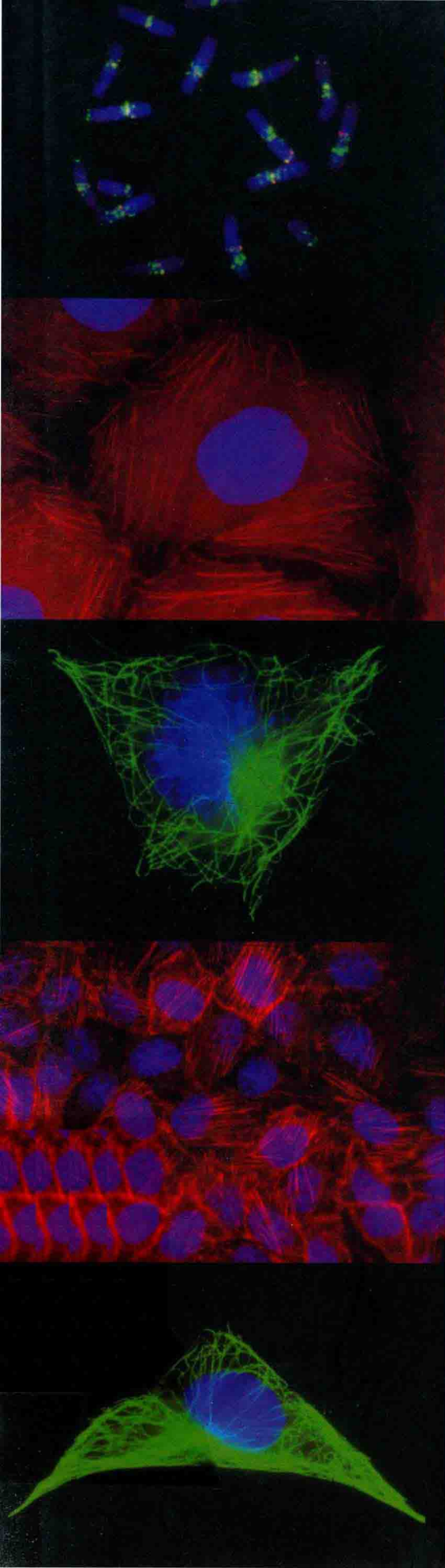
“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材

CELL BIOLOGY EXPERIMENTS

细胞生物学实验

第4版

主编 王崇英 侯岁稳 高欢欢



高等教育出版社

高等教育本科国家级规划教材

细胞生物学实验

CELL BIOLOGY EXPERIMENTS

第4版

主 编 王崇英 侯岁稳 高欢欢

编 者 (按姓氏拼音排序)

常 城 (兰州大学)

陈立群 (中国农业大学)

邓 霞 (兰州大学)

杜 中 (中国农业大学)

高清祥 (兰州大学)

侯岁稳 (兰州大学)

贾鹏飞 (兰州大学)

李巧峡 (西北师范大学)

娄慧玲 (复旦大学)

钱 洁 (同济大学)

邵红莲 (山东大学)

王崇英 (兰州大学)

王春明 (兰州大学)

闫龙凤 (兰州大学)

杨 宁 (西北师范大学)

叶希韵 (华东师范大学)

张尚立 (山东大学)

张 伟 (北京师范大学)

赵 静 (山东大学)

陈成彬 (南开大学)

程 博 (兰州大学)

杜宇平 (兰州大学)

高欢欢 (兰州大学)

郭 滨 (复旦大学)

胡 鑫 (西北农林科技大学)

李海燕 (兰州大学)

刘 恒 (兰州大学)

牟长军 (兰州大学)

邱全胜 (兰州大学)

苏 乐 (山东大学)

王春国 (南开大学)

王 勤 (兰州大学)

杨金波 (兰州大学)

杨 涛 (兰州大学)

易 娟 (兰州大学)

张胜祥 (兰州大学)

赵东利 (大连大学)

朱 莉 (兰州大学)



高等教育出版社·北京

内容简介

本书由多所高等院校教学和科研第一线的老师执笔写作,秉承了本实验教材简明、实用和可操作性强的一贯特色。全书共3篇7章45个实验和12个附录。第一篇5个实验分别介绍了普通光学显微镜、特殊光学显微镜、激光扫描共聚焦和双光子激光扫描荧光显微镜以及透射和扫描电子显微镜的原理及使用方法;第二、三篇从基础性、综合性与设计性实验层面安排了40个实验,涵盖了细胞形态结构和生理活动、细胞分裂与染色体分析、细胞培养与细胞工程、细胞周期与细胞凋亡、细胞的遗传转化、基因编辑及蛋白质互作等实验内容,旨在培养学生的基本实验技能和综合创新能力;附录部分提供了实验中经常用到的相关参数与资料。本书配套数字课程(<http://abook.hep.com.cn/48207>)包括部分实验内容的操作视频,以及预期实验结果彩色照片(教材中用表示),以便读者灵活自助学习和实践。

本书图文并茂、内容新颖,除了可作为综合、师范、农林、医学等院校相关专业的本科生实验教材之外,还可供研究生、相关科研及实验技术人员参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

细胞生物学实验/王崇英,侯岁稳,高欢欢主编.—4版.
—北京:高等教育出版社,2017.9
ISBN 978-7-04-048207-2

I. ①细… II. ①王… ②侯… ③高… III. ①细胞生物学—实验—高等学校—教材 IV. ①Q2-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2017)第193232号

Xibao Shengwuxue Shiyān

策划编辑	高新景	责任编辑	高新景	责任印制	赵义民
封面设计	姜磊	版式设计	锋尚设计		

出版发行	高等教育出版社	网 址	http://www.hep.edu.cn
社 址	北京市西城区德外大街4号		http://www.hep.com.cn
邮政编码	100120	网上订购	http://www.hepmall.com.cn
印 刷	北京铭传印刷有限公司		http://www.hepmall.com
开 本	787mm×1092mm 1/16		http://www.hepmall.cn
印 张	16.25	版 次	1986年9月第1版
字 数	400千字		2017年9月第4版
插 页	3	印 次	2017年9月第1次印刷
购书热线	010-58581118	定 价	29.80元
咨询电话	400-810-0598		

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 48207-00

数字课程 (基础版)

细胞生物学实验 (第4版)

主编 王崇英 侯岁稳 高欢欢



细胞生物学实验

登录方法:

1. 电脑访问<http://abook.hep.com.cn/48207>, 或手机扫描下方二维码、下载并安装Abook应用。
2. 注册并登录, 进入“我的课程”。
3. 输入封底数字课程账号 (20位密码, 刮开涂层可见), 或通过Abook应用扫描封底数字课程账号二维码, 完成课程绑定。
4. 点击“进入学习”, 开始本数字课程的学习。

课程绑定后一年为数字课程使用有效期。如有使用问题, 请发邮件至:

lifescience@pub.hep.cn

细胞生物学实验数字课程与纸质教材一体化设计, 紧密配合。数字课程主要包含以下两方面内容:

1. 实验原理或关键操作的录像

激光扫描共聚焦荧光显微镜成像的基本原理、激光扫描共聚焦荧光显微镜观察荧光材料的操作要点、双光子激光扫描荧光显微镜观察活体小鼠神经元的操作要点、透射电子显微镜及超薄切片、扫描电子显微镜的原理与操作、微丝直接荧光标记定位中细胞的固定洗涤及染色、微管观察中湿盒的使用、植物组织培养的接种操作、外源基因的瞬时表达、动物细胞原代培养 (组织块贴壁培养法)、胰蛋白酶溶液消化组织块的操作要点 (消化细胞培养法)、应用流式细胞计量技术检测动物细胞周期、细胞凋亡的诱导与形态学观察等。

2. 预期实验结果彩色图片

落射式荧光显微镜光路图、扫描电镜下动物组织形态、吖啶橙染色的口腔上皮细胞、荧光显微镜下的叶绿体、HeLa细胞生死状况的鉴别、直接荧光标记定位的HeLa细胞中的微丝、水稻愈伤组织培养和分化的再生植株、原代培养及传代培养的动物细胞形态、报告基因在拟南芥叶片和根中的表达、端粒序列荧光原位杂交等。

用户名: 密码: 验证码: 3408 忘记密码?

<http://abook.hep.com.cn/48207>

扫描二维码, 下载Abook应用



时光匆匆飞逝,转眼间《细胞生物学实验》第3版教材已经出版6年了。在此期间,本书被国内多所不同类型高等院校选用,受到广大师生和读者的好评和厚爱。2014年,本书入选“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材,这既令编者感到欣慰,同时也深感责任重大。近年来,细胞生物学与分子生物学等学科日益交融,本学科也逐渐演变为分子细胞生物学,加之该领域的新技术不断涌现,这些都令新时期细胞生物学实验的课程教学和科研训练的理念和内容需要及时更新。兰州大学细胞生物学课程团队基于此,组织多所高等院校教学和科研一线教师,启动了教材的修订工作。

本书沿承《细胞生物学实验》教材一贯的写作风格,秉承简明、实用和可操作性强等特色,反映了目前国内高校细胞生物学实验课程教学的主体水平。本教材持续优化实验体系和实验内容,适当引入科研新成果和新方法,具有较好的系统性、先进性和实用性。此外,本书于国内较早地尝试了“实验教材+数字课程”的新形态教材编写模式,也受到了使用学校师生的欢迎。

在第3版基础上,本书对实验体系进行了进一步调整:合并原第六章至第四章“细胞分裂与染色体分析”中;根据实验内容,新增“细胞的遗传转化、基因编辑及蛋白质互作”一章,使得教材层次更加清晰。删除了第3版中略显陈旧或操作性稍弱的6个实验,分别为原实验六、七、十五、十七、三十三和三十五,新增10个反映学科研究新方法或者具有较强操作性的实验,分别为实验八“植物液泡观察、分离纯化及 H^+ -ATPase活力测定”,实验十四“细胞自噬的诱导及检测”,实验十六“植物内源 H_2S 、NO和ROS的原位检测”,实验二十一“II. 5S、18S rDNA和SSR在黑麦中期染色体上的荧光原位杂交”;实验二十七“细胞计数与计量”;实验二十九“细胞迁移分析——划痕实验”;实验三十六“植物根尖细胞有丝分裂高频同步化诱导”;实验四十三“哺乳动物细胞基因的定向敲除——CRISPR-Cas9技术”;实验四十四“蛋白质分子互作的体外检测——酵母双杂交技术”;实验四十五“细胞内蛋白质分子互作检测——双分子荧光互补技术”。根据教学实践,修改了实验四、五、十一3个实验;增加了附录10“细胞器常用特异荧光探针和抗原”。增加拍摄了扫描电子显微镜、透射电子显微镜及超薄切片两段操作视频。此外,此次修订还修正了第3版实验内容中某些文字表述不太准确的地方,补充了部分预期实验结果图片。

与第3版相比,新版教材内容更加新颖全面,图文并茂,除了可用作高等学校生物、农林、医学相关专业的本科教材之外,还可供研究生、实验技术人员或科研工作者参考。本书共包含45个实验,实验内容较为丰富,基本涵盖了现代细胞生物学实验教学的各领域。在使用过程中,各校和读者可根据自身条件、学时数和教学目的灵活选取,即使一些实验暂时无法开展,我们也希望学生能够了解分子生物学先进技术在细胞生物学中的应用,拓宽视野、启发思维。

第4版教材的主编更换为兰州大学生命科学学院王崇英、侯岁稳和高欢欢3位

老师，高清祥老师因为已经退休不再担任主编。在本书即将出版之际，我们衷心感谢高等教育出版社生命科学与医学出版事业部吴雪梅编审和高新景编辑所给予的全方位支持；感谢高清祥老师在实验内容确定和视频拍摄中所给予的宝贵建议和热情指导；感谢为本书辛勤撰写和拍摄视频的老师们；感谢所有给予我们支持和帮助的人们，尤其是默默奉献的研究生们；同时，我们也要感谢“国家基础学科人才培养基金”的资助和兰州大学生命科学学院的大力支持。

由于水平和时间有限，书中纰漏之处在所难免。为此，我们真诚希望广大教师、学生和相关科研工作者在使用本书的过程中与我们保持交流，提出宝贵意见和建议，以便我们在重印和再版时进一步修正、改进和提高。

王崇英 侯岁稳 高欢欢
2017年7月于兰州大学

细胞生物学是生命科学的重要基础学科和前沿学科,在学生的知识结构体系中占有重要地位,其实验教学不仅能够加深学生对课堂理论知识的理解和记忆,而且还可以培养学生的观察能力、实践动手能力、分析问题和解决问题的能力以及科研创新能力,在细胞生物学的整个教学环节中起着举足轻重的作用。近年来,细胞生物学的发展可谓日新月异,各种研究的新方法、新技术如雨后春笋层出不穷。为了紧跟学科发展趋势,适应学科发展需要,建立有利于创新型人才培养的实验内容体系,我们再次受高等教育出版社的委托,邀请综合性大学、师范院校和农林院校共11所高校的30位具有丰富教学和科研经验的教师对《细胞生物学实验》(第2版)进行了修订和补充。

本书保持了上一版简明、实用和可操作性强的特点,并在第2版的基础上优化了实验教学内容体系,保留了一些常用的经典实验,删除了相对陈旧和不适用的实验,增加了综合性、设计性实验的比例,把科研成果及方法引入到相关实验中,设置了显微镜技术、基础性实验、综合性与设计性实验模块;同时,对每个实验的结构体系进行了调整和探索,强化了要点提示及注意事项,增加了预期实验结果,希望本书能够在细胞生物学实验课教学和科研中发挥作用。全书分为三篇,第一篇为显微镜技术,包括2章7个实验,介绍了“普通光学显微镜”、“特殊光学显微镜”、“激光扫描共聚焦荧光显微镜”、“双光子激光扫描荧光显微镜”和“电子显微镜”的原理及使用方法,使学生了解各种显微镜的基本原理、特点和应用范围;第二篇为基础性实验,包括2章13个实验,主要介绍“细胞形态结构和生理活动”、“细胞分裂与染色体标本制备”等内容,使学生掌握当前细胞生物学研究的基本知识和基本实验技能;第三篇为综合性和设计性实验,包括3章22个实验,涵盖了“细胞培养、遗传转化及基因表达”、“染色体分析技术”以及“细胞周期与细胞凋亡”等内容,旨在培养学生的综合实践技能和创新能力。附录部分收录了“细胞生物学实验室注意事项”、“实验报告的书写要求”、“实验室器具的清洁和灭菌”、“显微镜物镜常用的一些符号说明”、“离心机转数与离心力换算表及公式”、“试剂浓度的表示法及其计算”、“部分动、植物及人的染色体数目”、“常用缓冲液的配制”、“荧光染料参数”、“常用培养用液的配制”及“常用细胞生物学词汇”等常见资料,以方便读者使用。书后附有部分实验的彩色图片和照片。

为便于学生更好地理解与学习相关实验内容,适应教材数字化的趋势,我们还将部分实验内容的录像片段、彩色图片和照片放于数字课程(基础版)网站上(彩色图片和照片在教材中用表示),供学有余力的学生学习和教师教学参考。完整录像将以光盘的形式单独发行。

本书由常年从事细胞生物学教学和科研的教师执笔,所编内容充分体现了各自特色,包含了他们的实践经验、实验技巧和研究成果,实验流程绝大多数在教学中进行过实践,因此具有较强的可操作性,反映了目前国内细胞生物学实验教学的水平,体现了教材的系统性、先进性和实用性。参加本书编写的单位有复旦大学、南

开大学、山东大学、同济大学、大连大学、兰州大学、北京师范大学、华东师范大学、西北师范大学、中国农业大学和西北农林科技大学。

《细胞生物学实验》(第2版)主编杨汉民老师虽然年事已高,但一直关注着本书的编写过程,从编委的筹建、大纲的起草,直至完稿都给予了许多宝贵的建议和指导,实质上起到了编写顾问的作用,为本书的顺利出版付出了大量的心血,我们对此深表敬意和感激。在本书编写过程中,得到了高等教育出版社生命科学与医学出版事业部的鼎力支持和帮助,在此表示衷心感谢。同时,本书的出版也得到了“国家基础科学人才培养基金”的资助以及参编高校生命科学学院及教学主管部门的大力支持,在此一并致谢!

本书内容新颖、图文并茂,除了可用作综合性大学、师范、农林、医学等院校相关专业的本科生教材之外,还可作为研究生、科研及实验技术人员的参考书。本书在使用过程中,各高校和读者可根据自身实验条件、教学时数和实验目的灵活选取实验内容。

由于编者的水平和时间有限,纰漏之处在所难免。为此,我们真诚希望广大教师、学生和相关科学工作者在使用本书的过程中不吝提出宝贵意见和建议,以便我们及时修正和改进。

王崇英 高清祥
2011年3月于兰州大学

第一篇

显微镜技术

第一章 光学显微镜及其使用002

实验一 普通光学显微镜及其使用 002

实验二 特殊光学显微镜及其使用006

I. 暗视野显微镜 007

II. 相差显微镜 008

III. 偏振光显微镜 010

IV. 微分干涉差显微镜 012

V. 荧光显微镜 014

实验三 激光扫描共聚焦荧光显微镜和双光子激光扫描荧光显微镜018

I. 激光扫描共聚焦荧光显微镜 018II. 双光子激光扫描荧光显微镜 021

第二章 电子显微镜及其使用027

实验四 透射电子显微镜术 027

I. 透射电子显微镜的原理与操作 027II. 透射电子显微镜超薄切片样品制备 031

实验五 扫描电子显微镜术043

I. 扫描电子显微镜的原理、用途与使用方法 043II. 扫描电子显微镜样品制备 046

第二篇

基础性实验

第三章 细胞形态结构和生理活动052

实验六 细胞显微结构观察 052

实验七 细胞器的活体染色与观察	054
I. 高尔基体活体染色与观察	056
II. 内质网活体染色与观察	057
III. 液泡和溶酶体活体染色与观察	057
IV. 线粒体活体染色与观察	058
V. 细胞核活体染色与观察	059
实验八 植物液泡观察、分离纯化及 H^+ -ATPase活力测定	060
实验九 叶绿体的分离、纯化及荧光观察	064
实验十 细胞骨架组分的荧光标记定位	067
I. 微丝的直接荧光标记定位	067
II. 微管的间接免疫荧光定位	070
实验十一 细胞膜的渗透性	073
实验十二 细胞凝集反应	075
实验十三 细胞生死状态的鉴别	078
实验十四 细胞自噬的诱导及检测	082
实验十五 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能检测	086
实验十六 植物内源 H_2S 、NO和ROS的原位检测	089
 第四章 细胞分裂与染色体分析	 093
实验十七 动物细胞有丝分裂及染色体标本制备	093
实验十八 植物细胞有丝分裂及染色体标本制备	096
I. 常规压片法制备植物细胞染色体标本	097
II. 去壁-低渗火焰干燥法制备植物细胞染色体标本	099
实验十九 人外周血淋巴细胞培养及其染色体分带与核型分析	101
实验二十 人类染色单体色差分析技术	105
实验二十一 荧光原位杂交定位	108
I. 端粒序列的荧光原位杂交	108
II. 5S、18S rDNA和SSR在黑麦中期染色体上的荧光原位杂交	111
实验二十二 减数分裂观察与染色体标本制备	114
I. 植物花粉母细胞减数分裂观察	114
II. 动物生殖细胞减数分裂观察与染色体标本制备	117
实验二十三 细胞分裂异常与染色体畸变	120

I. 植物细胞分裂异常与染色体畸变	120
II. 肿瘤细胞有丝分裂异常与染色体畸变	123

第三篇

综合性与设计性实验

第五章 细胞培养与细胞工程	128
---------------------	-----

实验二十四 植物组织培养(设计性实验) 	128
实验二十五 动物细胞培养 	132
实验二十六 体外培养细胞的冻存、复苏和活力测定	137
实验二十七 细胞计数与计量	140
I. 用台盼蓝排染法进行细胞计数	141
II. 用MTT法进行细胞计量	142
III. 用SRB法进行细胞计量	143
实验二十八 培养细胞生长曲线绘制和有丝分裂指数的测定	145
I. 细胞生长曲线的测定	146
II. 培养细胞有丝分裂指数的测定	147
实验二十九 细胞迁移分析——划痕实验(设计性实验)	149
实验三十 动物细胞融合	152
实验三十一 小鼠胚胎干细胞培养及体外诱导分化	155
实验三十二 动物细胞显微注射技术	159

第六章 细胞周期与细胞凋亡	164
---------------------	-----

实验三十三 动物细胞周期检测 	164
实验三十四 细胞同步化	166
实验三十五 植物细胞周期检测	169
实验三十六 植物根尖细胞有丝分裂高频同步化诱导	172
实验三十七 抗癌药物对肿瘤细胞增殖的影响(设计性实验)	174
实验三十八 细胞凋亡的诱导、形态学观察及生化特征检测(设计性实验)	178
I. 细胞凋亡的诱导与形态学观察 	178
II. 细胞凋亡的生化特征检测	181
实验三十九 单细胞凝胶电泳检测细胞中DNA链的断裂	183

第七章 细胞的遗传转化、基因编辑及蛋白质互作.....187

实验四十 哺乳动物细胞转染技术..... 187

实验四十一 植物原生质体的分离及外源基因的瞬时表达..... 189

实验四十二 *GUS*和*GFP*报告基因在植物组织中的表达及其检测..... 192

实验四十三 哺乳动物细胞基因的定向敲除——CRISPR-Cas9技术..... 195

实验四十四 蛋白质分子互作的体外检测——酵母双杂交技术..... 201

实验四十五 细胞内蛋白质分子互作检测——双分子荧光互补技术..... 205

附 录

附录1 细胞生物学实验室注意事项..... 210

附录2 实验报告的书写要求..... 211

附录3 实验室器具的清洁和灭菌.....214

附录4 显微镜物镜常用的一些符号说明..... 215

附录5 离心机转数与离心力换算表及公式.....217

附录6 试剂浓度的表示法及其计算..... 218

附录7 部分动、植物及人的染色体数目..... 220

附录8 常用缓冲液的配制..... 221

附录9 荧光染料参数..... 226

附录10 细胞器常用特异荧光探针和抗原..... 229

附录11 常用培养用液的配制..... 230

附录12 常用细胞生物学词汇..... 233

人作为低维生物的能力，是微维的微小生命在生物维度和智慧维度的自我超越与自我完善。

第一篇 显微镜技术



第一章

光学显微镜及其使用

实验一 普通光学显微镜及其使用

实验目的

1. 理解普通光学显微镜的机械系统和光学系统的结构组成及其工作原理。
2. 熟练掌握普通光学显微镜的使用方法并进行实际操作。

● 实验原理

1. 普通光学显微镜的成像原理

普通光学显微镜 (light microscope) 利用光学放大原理, 使用两组光学透镜 (物镜和目镜) 以及照明装置对标本的微观结构进行光学放大以及成像。其光路原理如图 1-1 所示: 物体位于物镜前方, 经物镜以后, 形成一个倒立的、放大的实像。实像再经目镜放大为虚像后供观察。

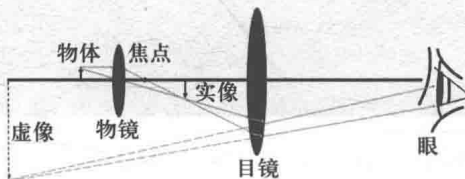


图1-1 普通光学显微镜光路原理图

2. 光学显微镜的分辨率

光学显微镜最重要的性能参数是分辨率 (D), 分辨率即所能分辨的两点之间的最小距离。所以, D 越小, 表示分辨率越高, 分辨能力就越强。人肉眼的分辨率大约是 0.2 mm 。任何显微镜都有一定的分辨率的极限, 如光学显微镜的最大分辨率通常为 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 。

光学显微镜的分辨率主要是由可见光的波长 (λ)、物镜孔径角 (α)、聚光镜和物镜之间介质的折射率 (n) 来决定的。显微镜分辨率 (D) 的公式如下:

$$D = \frac{0.61\lambda}{n \cdot \sin(\alpha/2)}$$

式中, λ : 照明光源的波长; n : 聚光镜和物镜之间介质的折射率; α : 样品对物镜的孔径角。 λ 的最小值为 450 nm (紫色可见光), α 的最大值为 140° , 如果用空气作为聚光镜和物镜之间的介质 (n 为 1), 其分辨率大约为 $0.3\text{ }\mu\text{m}$; 如果用镜头油作为介质 (n 为 1.5), 其分辨率大约为 $0.2\text{ }\mu\text{m}$ 。

3. 放大率和有效放大率

光学显微镜另一个重要的性能参数是放大率。由于经过物镜和目镜的两次放大, 所以显微镜总的放大率应该是物镜放大率和目镜放大率的乘积。光学显微镜的放大率不是越高越

好，它有一个极限叫有效放大率。分辨率和放大率是两个不同的但又互有联系的概念。当选用的物镜数值孔径不够大，即分辨率不够高时，显微镜不能分清物体的微细结构，此时即使提高放大率，得到的也只是一个轮廓虽大但细节不清的图像，这称为无效放大率。相反，如果分辨率够高而放大率不足，则图像也会因轮廓太小而仍然不能清晰可见。所以为了充分发挥显微镜的分辨能力，显微镜的放大倍数应与物镜的数值孔径合理搭配，从而得到显微镜的有效放大率，获得最佳的成像效果。显微镜的有效放大倍数应为物镜数值孔径的500~1 000倍。

4. 主要构造

普通光学显微镜根据照明系统和成像系统位置关系的不同，一般分为正置和倒置两种。正置显微镜（uplight microscope）的成像系统在上，而照明系统在下，主要用于固定玻片标本的观察。倒置显微镜（inverted microscope）的照明系统在上，而成像系统在下，主要用于观察培养瓶中的活细胞。在进行动物细胞体外培养时，细胞通常紧贴于培养瓶或培养皿的底部呈单层生长。用普通正置光学显微镜观察，物镜受到一定厚度的培养瓶或培养皿的阻挡而不能靠近细胞样品聚焦。因此，倒置显微镜将照明系统和成像系统倒过来以解决这个问题。另外，为了观察活细胞，倒置显微镜一般会配上相差装置。正置和倒置显微镜的构造基本一致，主要分为三部分：机械部分、照明部分和光学放大部分。

（1）正置显微镜的主要构造：普通正置显微镜的构造如图1-2所示。



图1-2 普通正置显微镜结构图

① 机械部分

- a. 镜座：显微镜的底座，用以支持整个镜体。
- b. 镜柱：镜座上面直立的部分，用以连接镜座和镜臂。
- c. 镜臂：一端连于镜柱，一端连于镜筒，是取放显微镜时的手握部位。
- d. 镜筒：连在镜臂的前上方，镜筒上端装有目镜，下端装有物镜转换器。
- e. 物镜转换器：位于镜筒的下方，可自由转动，盘上有4~6个圆孔，用来安装物镜。转动物镜转换器，可以调换不同倍数的物镜，当听到碰叩声时，物镜到位，此时物镜光轴恰好对准通光孔中心。光路接通，即可进行观察。

- f. 载物台：在镜筒下方，形状有方、圆两种，中央有一通光孔，用以放置标本。一般显微镜的载物台上装有玻片标本推进器，推进器左侧有弹簧夹，用以固定玻片标本，载物台下有标本推进器调节轮，可使玻片标本做左右、前后方向的移动。
- g. 调节器：位于镜柱上的大小两种旋钮，有些显微镜的粗、细旋钮同轴，粗旋钮在内，细旋钮在外，调节旋钮可使载物台上下移动。
 - 粗调节器：大旋钮是粗调节器，旋转时可使载物台快速、较大幅度地升降，所以能迅速调节物镜和标本之间的距离，使物像呈现于视野中。通常在使用低倍镜时，先用粗调节器迅速找到物像。
 - 细调节器：小旋钮是细调节器，旋转时可使镜台缓慢、小幅度地升降，使用时得到更清晰的物像，并通过调节来观察标本的不同层次和不同深度的结构。

② 照明部分 位于载物台下方，包括聚光器及光源。

- a. 聚光器：位于载物台下方的聚光器架上，由聚光镜和孔径光阑组成，其作用是把光线集中到所要观察的标本上。
 - 聚光镜：由一片或数片透镜组成，起汇聚光线的作用，加强对标本的照明，并使光线射入物镜内，镜柱旁有一调节旋钮，转动它可升降聚光器，以调节视野中光亮度的强弱。
 - 孔径光阑：在聚光镜下方，由多张金属薄片组成，转动孔径光阑的外圈可调节其开孔的大小，以调节光的亮度和标本的反差。
- b. 光源：位于显微镜镜座里面或外面，一般为普通灯泡或者发光二极管（light-emitting-diode，LED）灯泡。

③ 光学放大部分

- a. 目镜：装在镜筒的上端，通常备有2~3个，上面刻有“5×”“10×”以表示其放大倍数，一般装的是“10×”的目镜。
- b. 物镜：装在镜筒下端的物镜转换器上，一般有4~6个物镜，其中较短的物镜，如刻有“10×”的为低倍镜；较长的物镜刻有“20×”“40×”的为高倍镜；最长的物镜刻有“100×”，为油镜。镜壁上一般还标有数字和缩写，表示该物镜的性能及参数，如：数值孔径（NA）、放大倍数、工作距离等。此外，在高倍镜和油镜上还常加有一圈不同颜色的线，以示区别。

其中数值孔径很重要，它反映该物镜分辨率的大小，其数值越大，表示分辨率越高，一般学生用显微镜物镜的数值孔径及其他参数如下所示：

物镜	数值孔径(NA)	工作距离/mm
10 ×	0.25	5.40
40 ×	0.65	0.39
100 ×	1.25	0.11

其中的工作距离是指显微镜在物像调节清楚时物镜的下表面与标本上表面之间的距离，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10×10=100。

(2) 倒置显微镜的主要构造：倒置显微镜结构组成和普通正置显微镜一样，只不过物镜与照明系统位置颠倒，物镜在载物台之下，照明系统在载物台之上。同时为了用于观察培养

的活细胞，一般装有相差物镜。倒置显微镜的结构如图1-3所示。

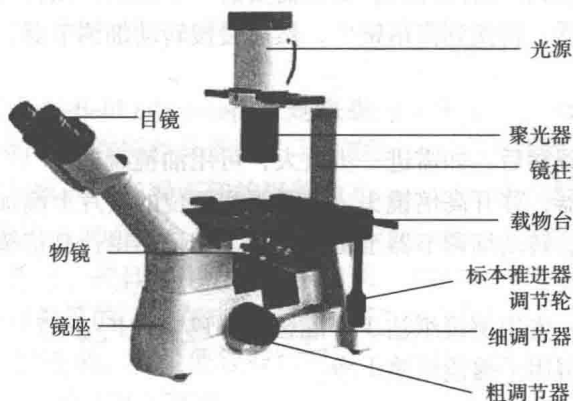


图1-3 倒置光学显微镜结构图

● 实验程序

正置和倒置显微镜的使用方法大致相同，一般都包括以下几个方面的操作。

1. 光路调中

- (1) 首先选用“10×”物镜和“10×”目镜。
 - (2) 把聚光镜升到最顶端的位置，孔径光阑调至适中的位置。
 - (3) 载物台上放置玻片标本，开亮光源，调焦清晰。
 - (4) 视野中出现一个局部照明的区域或亮斑。
 - (5) 把聚光镜缓慢地上下调节，使视野中的亮斑逐渐变成一个清晰的多边形图像。
 - (6) 如果光路没有调中，则多边形图像就不在视野中央，此时再调节聚光镜旁边的一对调中旋钮，把多边形的图像调至视野中央。
 - (7) 逐渐开大视场光阑，使多边形图像成为视野的内接多边形，进一步调节调中旋钮，使多边形的图像始终位于视野中央。
 - (8) 将视场光阑再稍微开大一些，使多边形图像恰好消失在视野的边缘。
- 至此，照明系统光路调中调整完毕，整个视野照明均匀，即可进行观察。

2. 低倍镜的使用方法

- (1) 首先用拇指和中指转动物镜转换器（切忌手持物镜转动），听到碰叩声时，说明物镜光轴已对准镜筒中心。
- (2) 取一玻片标本放在载物台上，盖玻片的一面朝上（倒置显微镜，盖玻片的一面朝下），用推进器弹簧夹夹住玻片，然后旋转推进器调节轮，将待观察的部位调到通光孔的正中。
- (3) 转动粗调节器，使视野中出现标本图像。
- (4) 缓慢转动细调节器，直至图像清晰为止。如果图像不在视野中心，可调节标本推进器调节轮将其调到中心。