



普通高等教育“十三五”规划教材
全国高等院校医学实验教学规划教材

编审委员会主任委员 文格波
编写委员会总主编 姜志胜

医学遗传学实验

主编 彭翠英 刘俊



科学出版社

普通高等教育“十三五”规划教材
全国高等院校医学实验教学规划教材

编审委员会主任委员 文格波

编写委员会总主编 姜志胜

医学遗传学实验

主 编 彭翠英 刘 俊
副主编 胡劲松 谭跃球 朱允华
主 审 傅松滨 吴端生
编 委 (以姓氏笔画为序)

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 王宗保 | 刘 俊 | 朱允华 | 李国庆 |
| 李 鹏 | 杨南扬 | 杨晓燕 | 杨粤军 |
| 杨露青 | 狄玉芬 | 周军媚 | 易 岚 |
| 胡劲松 | 贺庆芝 | 殷 杰 | 秦志峰 |
| 彭翠英 | 谢红艳 | 谭跃球 | |

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书全国高等院校医学实验教学规划教材。由南华大学彭翠英教授与刘俊副教授主编。全书共分为常用仪器及基本技术方法、验证性实验和综合创新性实验三篇。本书具有简明、实用、内容新等优点,在内容上体系上都有大的创新。本书保留了人类外周血淋巴细胞的培养及染色体标本制备,人类染色体 G 显带标本的制备与观察等医学遗传学等经典实验;同时增加了反映学科前沿的人类肠道微生物基因 DNA 的提取,人类肠道微生物多样性分析及多重连接依赖的探针扩增检测亚端粒区拷贝数等实验,将经典内容与前沿知识有机结合在一起。

本书可供高等医学院校、综合性大学的临床、麻醉、护理等医学类专业的本科生使用;部分实验亦可供医学类研究生使用。

图书在版编目(CIP)数据

医学遗传学实验 / 彭翠英, 刘俊主编. —北京: 科学出版社, 2016.6
普通高等教育“十三五”规划教材·全国高等院校医学实验教学规划教材
ISBN 978-7-03-048486-4

I. ①医… II. ①彭… ②刘… III. ①医学遗传学-实验-医学院校-教材 IV. ①R394-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 121645 号

责任编辑: 李 植 / 责任校对: 刘亚琦

责任印制: 赵 博 / 封面设计: 陈 敬

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>

安泰印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2016 年 6 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2016 年 6 月第一次印刷 印张: 7 1/2

字数: 166 000

定价: 28.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

全国高等院校医学实验教学规划教材 编审委员会

主任委员 文格波

副主任委员 姜志胜 吴移谋 廖端芳

委员 (以姓氏笔画排序)

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 王 韵 | 王宗保 | 牛亦农 | 龙双涟 |
| 田 英 | 刘贻尧 | 刘艳平 | 宇 丽 |
| 严 杰 | 李 和 | 肖建华 | 肖献忠 |
| 何庆南 | 余 平 | 宋 健 | 张新华 |
| 陈 熙 | 罗学港 | 周国民 | 贺修胜 |
| 秦晓群 | 龚永生 | 傅松滨 | 管又飞 |

编写委员会

总 主 编 姜志胜

副总主编 田 英 陈 熙 贺修胜

编 委 (以姓氏笔画排序)

| | | | |
|-----|-----|-----|-----|
| 万 炜 | 王汉群 | 尹 凯 | 甘润良 |
| 龙石银 | 乔新惠 | 刘 俊 | 刘录山 |
| 向宇燕 | 李严兵 | 李国庆 | 李忠玉 |
| 李美香 | 杨秋林 | 张 艳 | 屈丽华 |
| 易 岚 | 易光辉 | 胡四海 | 赵飞骏 |
| 桂庆军 | 凌 晖 | 唐志晗 | 梁 瑜 |
| 彭翠英 | 谭健苗 | | |

秘 书 梁 瑜 唐志晗

序 一

近年来，教育部卫生部等多部委紧密部署实施本科教学工程、专业综合改革试点、实践育人和卓越医生教育培养计划，把强化实践教学环节作为重要内容和重点要求，进一步凸显了医学实践性很强的属性，对切实加强医学实验教学提出了更高要求，指引着我国医学实验教学进入全面深化改革阶段。

高校牢固树立以学生为本、目标导向和持续改进的教育理念，积极创新和完善更加有利于培养学生实践能力和创新能力的实验教学体系，建设高素质实验教学队伍和高水平实验教学平台，以促进和保证实验教学水平全面提高。为此，南华大学医学院协同国内多所高校对第一版《全国高等院校医学实验教学规划教材》进行了修订和拓展。第二版教材涵盖了解剖学、显微形态学、医学免疫学、病原生物学、机能学、临床技能学、生物化学、分子生物学、医学细胞生物学、医学遗传学的实验教学内容，全书贯彻了先进的教育理念和教学指导思想，把握了各学科的总体框架和发展趋势，坚持了理论与实验结合、基础与临床结合、经典与现代结合、教学与科研结合，注重对学生探索精神、科学思维、实践能力、创新能力的全面培养，不失为一套高质量的精品教材。

愿《全国高等院校医学实验教学规划教材》的出版为推动我国医学实验教学的深化改革和持续发展发挥重要作用。

教育部高等学校基础医学类专业教学指导委员会主任委员
中国高等教育学会基础医学教育分会理事长
2015年12月



序 二

随着本科教学工程、专业综合改革试点、实践育人和卓越医生教育培养计划的实施,高等医学院校迎来了进一步加强医学实验教学、提高医学实验教学质量的大好时机,必须积极更新医学实验教学理念,创新实验教学体系、教学模式和教学方法,整合实验教学内容,应用实验教学新技术新手段,促进医学人才知识、技能和素质全面协调发展。

《全国高等院校医学实验教学规划教材》编审委员会和编写委员会与时俱进,积极推进实验教学改革的深化,组织相关学科专业的专家教授,在第一版的基础上,吸收了南华大学等多个高校近年来在医学实验教学方面的改革新成果,强调对学生基本理论、基础知识、基本技能以及创新能力的培养,打破现行课程框架,构建以综合能力培养为目标的新型医学实验教学体系,修订并拓展了这套实验教学规划教材。第二版教材共十四本,包括:《系统解剖学实验》《局部解剖学实验》《显微形态学实验(组织与胚胎学分册)》《显微形态学实验(病理学分册)》《病原生物学实验(医学微生物学分册)》《病原生物学实验(人体寄生虫学分册)》《医学免疫学实验》《机能实验学》《临床基本技能学(诊断技能分册)》《临床基本技能学(外科基本技能分册)》《生物化学实验与技术》《分子生物学实验》《医学细胞生物学实验》《医学遗传学实验》。

本套规划教材的编写,借鉴国内外同类实验教材的编写模式,内容上依据医学实验体系进行重组和有机融合,按照医学实验教学的逻辑和规律进行编写,并注重知识的更新,反映学科的前沿动态,体现教材的思想性、科学性、启发性、先进性和实用性。

本套规划教材适用对象以本科临床医学专业为主,兼顾麻醉学、口腔医学、医学影像、护理学、预防医学、医学检验、卫生检验、药学、药物制剂、生物科学、生物技术等专业实验教学需求,各层次各专业学生可按照其专业培养特点和要求,选用相应的实验项目进行教学与学习。

本套规划教材的编写出版,得到了科学出版社和南华大学以及有关兄弟院校的大力支持,凝聚了各位主编和全体编写、编审人员的心血和智慧,在此,一并表示衷心感谢。

由于医学实验教学模式尚存差异,加上我们的水平有限,本套规划教材难免存在缺点和不当之处,敬请读者批评指正。

总主编
2015年12月



前 言

医学遗传学是遗传学和医学相结合的一门边缘学科，是现代医学中发展最迅速的学科之一。它运用遗传学的理论和方法研究人类遗传病的发生机制、传递规律，探索遗传病的诊断、治疗及预防。医学遗传学又是一门依赖于实验技术的基础与临床密切结合的医学桥梁学科。因此，实验课是医学遗传学教学的重要组成部分。

随着遗传学科的高速发展，现代分子遗传学技术的日新月异，产前诊断技术不断更新，本书借鉴国内外类似实验教材的编写模式，内容上依据医学实验体系进行编写。全书保留了人类外周血淋巴细胞的培养及染色体标本制备，人类染色体 G 显带标本的制备与观察等医学遗传学经典实验；同时增加了人类肠道微生物基因组 DNA 的提取，人类肠道微生物多样性分析及多重连接依赖的探针扩增检测亚端粒区拷贝数等反映学科前沿动态的新的实验。本书保持了经典与前沿相结合、实验技术全面的医学遗传学实验体系，同时注重医学遗传学创新能力的培养。本书编入的实验内容较多，各院校在使用本书时，可以根据各校的专业人才培养方案、教学大纲及实验室的设备条件的具体情况，合理选择实验项目。

本书分常用仪器及基本技术方法、验证性实验、综合创新性实验三篇，共 32 个实验项目。这些实验项目既有一定的联系，又具有相对的独立性，每个实验项目都能体现其理论意义和实际运用价值。编写的每一个实验项目，都对实验目的、实验原理、实验用品和材料、方法和步骤、注意事项等方面作了充分的阐述，并备有附录，供学生参考。

本书可供高等医学院校、综合性大学的临床、麻醉、护理等医学类专业的本科生使用；部分实验亦可供医学类研究生使用。

由于水平和经验所限，有不足之处在所难免，我们诚挚希望得到使用本实验课手册的教师和同学们的反馈意见，以便不断改进和更新。

彭翠英 刘俊

2015 年 12 月

目 录

第一篇 常用仪器及基本技术方法

| | |
|------------------------|----|
| 实验一 普通光学显微镜的结构与使用 | 3 |
| 实验二 荧光显微镜的结构与使用 | 9 |
| 实验三 人类基因组 DNA 的提取与鉴定技术 | 13 |
| 实验四 琼脂糖凝胶电泳技术 | 16 |
| 实验五 聚合酶链反应 (PCR) 技术 | 18 |
| 实验六 DNA 限制性内切酶酶切技术 | 21 |
| 实验七 DNA 分子杂交技术 | 23 |
| 实验八 聚丙烯酰胺凝胶电泳技术 | 27 |

第二篇 验证性实验

| | |
|---------------------------------|----|
| 实验九 人类外周血淋巴细胞的培养及染色体标本制备 | 30 |
| 实验十 人类非显带染色体的核型分析 | 33 |
| 实验十一 人类 G 显带染色体标本的制备与观察 | 36 |
| 实验十二 人类 G 显带染色体核型分析 | 38 |
| 实验十三 人类高分辨显带染色体 (HRB) 标本的制备与观察 | 43 |
| 实验十四 人类染色体 Q 显带技术 | 48 |
| 实验十五 人类外周血淋巴细胞姐妹染色单体互换 (SCE) 技术 | 50 |
| 实验十六 人类性染色质标本的制作与观察 | 52 |
| 实验十七 减数分裂标本的制备与观察 | 55 |
| 实验十八 微核的制作与观察 | 57 |
| 实验十九 性别的基因诊断 | 59 |
| 实验二十 细菌抑制筛选试验 | 63 |
| 实验二十一 血清肌酸激酶活性的测定 | 66 |
| 实验二十二 肝豆状核变性病的筛查 | 69 |
| 实验二十三 ABO 血型与 PTC 尝味试验 | 71 |
| 实验二十四 遗传病系谱分析 | 73 |
| 实验二十五 Bayes 法在遗传咨询中的应用 | 76 |

第三篇 综合创新性实验

| | |
|--------------------|----|
| 实验二十六 肥胖的判断标准与等级评定 | 81 |
|--------------------|----|

| | |
|-----------------------------|-----|
| 实验二十七 人类肠道微生物基因组 DNA 的提取 | 86 |
| 实验二十八 人类肠道微生物多样性分析 | 88 |
| 实验二十九 比较基因组杂交实验 | 91 |
| 实验三十 多重连接依赖的探针扩增检测亚端粒区拷贝数变化 | 96 |
| 实验三十一 单核苷酸多态性分析 | 99 |
| 实验三十二 遗传咨询 | 101 |
| 参考文献 | 104 |
| 附录 | 106 |
| 附录一 生物绘图 | 106 |
| 附录二 实验常用试剂及配制方法 | 107 |

绪 论

一、医学遗传学实验目的和要求

《医学遗传学》是遗传学与医学相结合的一门前沿学科，研究遗传病发生机制、传递方式、诊断、治疗、预后、再发风险和预防方法，从而控制遗传病在一个家庭中的再发，降低它在人群中的危害。

医学遗传学实验课是医学遗传学课程的重要内容。通过实验，有助于加强和巩固理论基础知识，并了解和掌握本学科的基本实验内容和操作技能。通过实验操作，可以锻炼学生的动手能力；通过实验操作，可以使学生掌握绘图、书写实验记录和实验报告的基本方法与技巧；通过实验操作，也可以培养学生分析问题、综合问题和解决问题等方面的能力。

为此，要求学生做到以下几点：实验课前做好预习，明确实验目的、实验原理；复习有关理论内容；熟悉实验的主要步骤；初步估计和判定实验的可能结果。

二、实验操作前的注意事项

1. 准备好教材、实验指导、实验报告本、文具等个人必备工具。
2. 穿好白大褂，按规定座位就座。
3. 保持安静，认真听讲，并仔细观察带教老师的示范操作。

三、实验操作过程中的注意事项

1. 认真、规范操作，仔细观察和综合分析实验所出现的现象与结果并及时记录。
2. 如果实验结果与理论结果不一致，须及时进行科学分析，判断结果的可靠性，探求出现误差的原因。
3. 各种实验试剂应轻拿轻放，用后放回原处，瓶盖封严。
4. 使用微量加样器时，一定调整好取用量，按使用要求操作。
5. 实验室应保持肃静，注意清洁卫生，实验中用过的废弃物品要及时清理、收集到垃圾桶，避免堵塞下水管道。

四、实验后的注意事项

1. 实验后，整理清洁所用仪器、设备，注意放回原位，以备下次使用。
2. 如有仪器损坏，要及时填写破损报告，并报告老师。
3. 值日生要打扫、清洁实验室。
4. 按要求做好实验记录，并提交实验报告。
5. 离开实验室前，检查并关闭门、窗、水、电。

五、实验室的意外处理

实验室如遇着火、烫伤等意外事件发生，必须镇静做紧急处理，并立即报告老师。

1. 着火：如遇酒精灯推倒或其他原因着火，首先将一切易燃品移至远处，然后用 CO₂ 灭火器灭火或者切断电源。

2. 灼伤或烫伤：皮肤被火灼伤或烫伤，用烫伤软膏涂抹，如伤势较重，立即送医院治疗。

3. 有毒有害药品：如有毒药品泼溅到皮肤上，如 EB、同位素等，应用大量清水进行清洗，必要时，去医院处理。

4. 割伤出血：遇玻璃割伤出血，可用碘酒或红药水消毒后，用纱布包扎。如有玻璃留在伤口，处理前应先取出。

5. 被实验动物咬伤：立即去医务室消毒、包扎伤口，并注射疫苗，以防感染。

第一篇 常用仪器及基本技术方法

实验一 普通光学显微镜的结构与使用

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

光学显微镜 (light microscope) 是生物科学和医学研究领域常用的仪器, 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。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。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, 目镜将标本放大成一个虚像, 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。分辨力 (resolving power) 也称为分辨率, 是指人眼通过显微镜分辨出标本上相互接近的两点间的最小距离的能力。是光镜的主要性能指示。显微镜的分辨力由物镜的分辨力所决定与目镜分辨力无关。光镜的分辨力 (R) (R 值越小, 分辨力越高) 可以下式计算:

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

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 (白光约为 500 nm)。放大率或放大倍数是光镜性能的另一重要参数, 显微镜的放大倍数等于目镜放大倍数与物镜放大倍数的乘积。

三、实验用品和材料

1. 器材 普通光学显微镜、擦镜纸、香柏油或液体石蜡 (石蜡油)、羊毛交叉装片、英文字母或数字的装片。
2. 清洁剂 (乙醚 7 份 + 无水乙醇 3 份)、二甲苯。

四、实验方法和步骤

(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。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。

(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。使用时注意凭手感使所需物镜准确到位。

(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（图 1-1-1，图 1-1-2）。

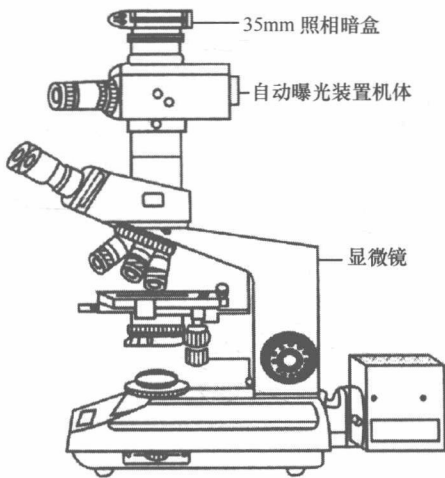


图 1-1-1 Olympus 显微镜 (BHS 型)

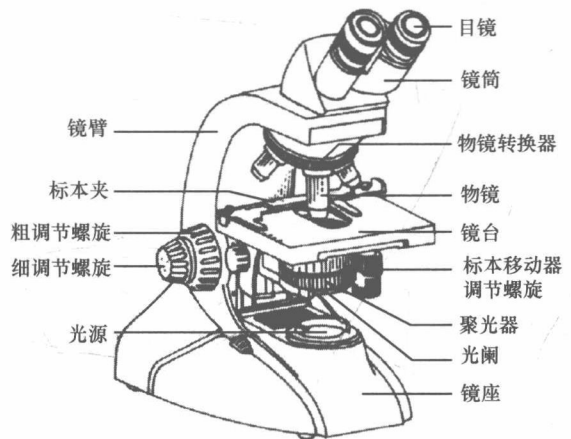


图 1-1-2 光学显微镜的构造

(4) 调节器：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），分粗调螺旋和细调螺旋两种。粗调螺旋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，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螺旋，精细调节焦距。

(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，下方光线经此孔照射到标本上。

在载物台上装有标本移动器（也称标本推进器），移动器上安装的弹簧夹用于固定玻片标本，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。

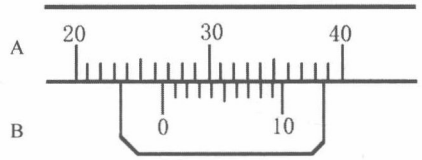


图 1-1-3 游标尺的使用方法示意图

(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,为整个显微镜的底座,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,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他人观察。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,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;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,油镜上还常标有“油”或“Oil”的字样。

油镜使用时需要用香柏油或石蜡油作为介质,这是因为香柏油或石蜡油折射率与玻璃近似的时(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,提高分辨力。物镜分辨力的大小取决于物镜的数值孔径(numerical aperture, NA),又称为镜口力,其数值越大,则表示分辨力越高。

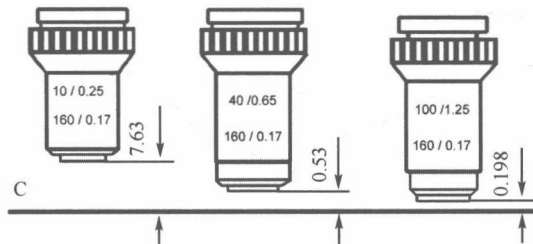


图 1-1-4 物镜的性能参数及工作距离

C 线为盖玻片的上表面, $10\times$ 物镜的工作距离为 7.63 mm; $40\times$ 物镜的工作距离为 0.198 mm; $10/0.25$ 、 $40/0.65$ 、 $100/1.25$ 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 160 mm,盖玻片厚度为 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。当低倍镜调节到工作距离后，可直接转换高倍镜或油镜，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）。

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，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。

(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 右手握住镜臂，左手托住镜座将显微镜小心从镜箱中取出，放置在实验台的偏左侧，以镜座的后端离实验台边缘 6~10 cm 为宜。检查显微镜的各个部件是否完整和正常。

2. 低倍镜的使用方法

(1) 对光：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，同时用粗调螺旋使载物台上升，直至低倍镜头距玻片标本的距离小于 0.6 cm，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或不在视野内，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 1 cm 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，一般都可使物像清晰。

请注意：

1) 从低倍镜转换到高倍镜时，有时会发生高倍物镜碰擦玻片而不能转换到位的情况，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，一边用粗调螺旋使载物台下降，看到物像后再用细调螺旋准焦。

2) 许多显微镜的低倍镜与高倍镜的视野中心存在偏差，从低倍镜转换高倍镜观察标本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，可利用羊毛交叉装片标本来测定光镜的偏心情况，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，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) 用高倍镜找到观察的标本物像，并将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，往观察的部位滴一滴香柏油或石蜡油，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：这时只能使用微调节螺旋，千万不要使用粗调节螺旋）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节螺旋，以免镜头下降压碎标本或损坏镜头。

(5) 油镜使用后，必须及时将镜头上的油擦拭干净。操作时先将油镜升高 1 cm，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。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，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。

五、注意事项

1. 取用显微镜时，应一手紧握镜臂，一手托住镜座，不要用单手提拿，以避免目镜或

其他零部件滑落。

2. 在使用镜筒直立式显微镜时，镜筒倾斜的角度不能超过 45 度，以免重心后移使显微镜倾倒。在观察带有液体的临时装片时，不要使用倾斜关节，以避免载物台的倾斜而使液体流到显微镜上。

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。先下降载物台，取下玻片标本，使物镜转离通光孔。然后上升载物台，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。

7. 在利用显微镜观察标本时，要养成两眼同时睁开，左手操纵调焦螺旋，右手操纵标本移动器的习惯，必要时应一边观察一边计数或绘图记录。

六、思考题

1. 填图，注明普通光学显微镜各部分的名称。
2. 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？
3. 在调焦时为什么要先将低倍镜与标本表面的距离调节到 6 mm 之内？
4. 如果标本片放反了，可用高倍镜或油镜找到标本吗？为什么？
5. 怎样才能准确而迅速地在高倍镜或油镜下找到目标？
6. 如果细调焦螺旋已转至极限而物像仍不清晰时，应该怎么办？
7. 如何判断视野中所见到的污点是在目镜上？
8. 在对低倍镜进行准焦时，如果视野中出现了随标本片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？