

能力培养型生物学基础课系列实验教材

细胞生物学实验教程



安利国 主编

XIBAOSHENGWUXUE
SHIYAN
JIAOCHENG



科学出版社
www.sciencep.com

33
2
1

能力培养型生物学基础课系列实验教材

细胞生物学实验教程

安利国 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书从基础性实验、综合性实验和研究性实验三个层面上设置实验项目,突出综合能力和创新能力的培养。基础性实验包括细胞形态与结构的观察技术、细胞化学、细胞膜生理、细胞增殖与染色体制备技术、细胞培养等内容,共计 21 个实验,是细胞学的最基本、最代表本学科特点的实验方法和技术。综合性实验包括细胞器的分离与观察、纺锤体的免疫荧光标记、免疫荧光方法显示植物细胞的微管、人微量外周血淋巴细胞培养及其染色体标本的制备、染色体分带技术、传代细胞培养及其增殖动力学检测、细胞融合和细胞凋亡等 8 个实验,是多技术和多层次的综合性实验,实验难度较大。本书还提供了 8 个研究性实验题目供学生开展创新性实验时参考。

本书是大学本科细胞生物学基础实验教材,适用于综合性大学、师范学院、农林院校和医学院校生物科学、生物技术及其相关专业的学生使用,也可供其他专业人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

细胞生物学实验教程/安利国主编. —北京:科学出版社,2004
能力培养型生物学基础课系列实验教材
ISBN 7-03-014202-0

I. 细... II. 安... III. 细胞生物学-实验-高等学校-教材
IV. Q2-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 084866 号

责任编辑:陈 露 谭宏宇 / 责任校对:连秉亮
责任印制:刘 学 / 封面设计:一 明

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

南京展望文化发展有限公司排版

江苏省句容市排印厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2004 年 9 月第 一 版 开本: B5(720×1000)

2004 年 9 月第一次印刷 印张: 8

印数: 1~3 200 字数: 144 000

定价: 12.80 元

能力培养型生物学基础课系列实验教材编委会

主任委员：安利国（山东师范大学）

副主任委员：刘家尧（曲阜师范大学）

孙虎山（烟台师范学院）

郭善利（聊城大学）

委 员：（按姓氏笔画为序）

付荣恕（山东师范大学）

艾洪滨（山东师范大学）

刘 箭（山东师范大学）

刘林德（烟台师范学院）

刘家尧（曲阜师范大学）

孙虎山（烟台师范学院）

安利国（山东师范大学）

杨 革（曲阜师范大学）

侯福林（山东师范大学）

赵遵田（山东师范大学）

郭善利（聊城大学）

《细胞生物学实验教程》编写人员

主 编：安利国

副主编：邢维贤 尹 苗

编 者：（按姓氏笔画为序）

尹 苗 闫华超 安利国 孙纳新

刘 林 孙振兴 邢维贤 邱 军

李学红 杨桂文 徐承水 崔龙波

出版说明

生物科学是一门实验性学科,实验教学在其专业课学习中占有十分重要的地位,动手能力、综合分析能力和创新能力的培养主要依靠实验教学来完成。

受传统教育思想的影响,几十年来我国高等师范院校生物科学专业的实验教学以学科知识为体系,从属于理论教学,以验证理论知识和学习实验技术为主要目的,忽视了能力的培养,扼杀了学生的创新欲望。实验内容繁琐,存在大量低水平的重复,远远不能适应创新型人才培养的要求。

近年来,随着创新人才教育的开展,能力培养已引起国家和学校的普遍重视。高教部下发的《关于加强高等学校本科教学工作,提高教学质量的若干意见》中特别强调“进一步加强实践教学,注重学生创新精神和实践能力的培养”,其中指出:“实践教学对于提高学生的综合素质、培养学生的创新精神与实践能力具有特殊作用。高等学校要重视本科教学的实验环节,保证实验课的开出率达到本科教学合格评估标准,并开出一批综合性、设计性实验。”但是,与此相适应的教材却很少,尤其是针对生物科学基础实验的系列教材未见出版。本套能力培养型实验教材就是适应我国高等教育创新性人才培养的需要而编写的。

本套教材将实验分为基础性实验、综合性实验和研究性实验三种类型。

基础性实验是经过精选的最基本的、最代表学科特点的实验方法和技术,通过学习使学生掌握相应学科的基本知识与基本技能,为综合性实验奠定基础。

综合性实验由多种实验手段与技术和多层次的实验内容所组成,要求学生独立完成预习报告、试剂配制、仪器安装与调试、实验记录、数据处理和总结报告。综合性实验主要训练学生对所学知识和实验技术的综合运用能力、对实验的独立工作能力、对实验结果的综合分析能力,为研究性实验的顺利开展做好准备。

研究性实验是在完成基础性实验和综合性实验的基础上,以相应学科的研究为主结合其他学科的知识与技术,由学生自己设计实验方案,开展科学研究,撰写课程研究论文,使学生得到科学研究的初步训练,为毕业论文研究工作的开展打下基础。部分优秀课程研究论文可进一步深化、充实,作为毕业论文参加答辩。

三种类型实验所占比例根据不同年级、不同课程而确定。低年级课程以基础性实验为主,基础性、综合性和研究性实验的比例为7:2:1。随年级升高,逐渐增加综合性和研究性实验的比例,基础性、综合性和研究性实验的比例达到

5:3:2。

本套教材试图从下述几个方面有所突破和创新:

1. 以能力培养为核心,通过综合性实验和研究性实验的开设,启发学生思维,引导学生创新。

2. 本套教材是我国高校第一套生物科学基础实验课系列性教材,在编委会的统一领导下完成,避免了低层次重复,体现了实验内容的系统性。

3. 本套教材特别强调实用性和可操作性,实验内容在编写单位已经经过了2~3遍的试用。

4. 本套教材充分体现先进性,尽可能反映生命科学的最新进展。

5. 每本教材都附有实验报告和研究论文范文,为学生提供了实验报告的规范性样板,对培养学生严谨、仔细的学风具有一定的指导作用。

6. 本套教材已着手制作电子光盘版,使之成为立体化教材。多数实验将配有录像和多媒体课件,用于实验之前播放,指导学生的实验操作。

尽管各位主编和编委已经尽了最大努力,但是,由于编者水平所限,肯定会有不少的错误,恳请各位同仁不吝赐教,以便再版时减少谬误。

本套教材得到国家教育部《面向二十一世纪,我国生物教育专业的培养目标、培养方案和课程体系的研究》和山东省高校生物科学(师范类)改革试点专业专项经费的资助,承蒙山东师范大学和科学出版社的领导与老师的大力支持,在此一并感谢。

安利国

2004年8月

前 言

细胞生物学是一门实验性学科,其诞生和发展是以实验仪器的发明和实验技术的改进为基础的。如果没有显微镜的发明,人们用肉眼不可能发现体积小于人眼分辨率 10 倍的如此微小的细胞;如果没有各种细胞染色技术的产生,人们不可能观察到无色透明的细胞内的显微结构;如果没有电子显微镜的出现,人们不可能了解细胞内部的超微结构;如果没有显微操作技术的成熟,人们不可能制造出克隆动物。因此,细胞学实验在细胞生物学的教学中占有十分重要的位置,它不仅有助于学生对细胞学知识与理论的学习和理解,同时,对培养学生的细胞学研究与创新能力也至关重要。

以往的细胞学实验教学过分注重实验技术的训练,忽略了学生能力的培养。实验开设了不少,但是,学生对基本的细胞学实验技术并不能真正把握,对所学的实验技术在科学研究中的用途更缺乏体会和理解。为了适应创新人才培养的需要,本书在实验内容的设置上作了大胆的尝试,从基础性实验、综合性实验和研究性实验三个层面上设置实验项目,突出综合能力和创新能力的培养。基础性实验包括细胞形态与结构的观察技术、细胞化学、细胞膜生理、细胞增殖与染色体制备技术、细胞培养等 5 章内容,共计 21 个实验,是细胞学的最基本、最代表本学科特点的实验方法和技术。基础性实验强调基本技术的学习和基本技能的训练,应特别注意学生的实验规范和实验习惯的养成。综合性实验包括细胞器的分离与观察、纺锤体的免疫荧光标记、免疫荧光方法显示植物细胞的微管、人微量外周血淋巴细胞培养及其染色体标本的制备、染色体分带技术、传代细胞培养及其增殖动力学检测、细胞融合和细胞凋亡等 8 个实验,它们都是在基础性实验基础上的多技术和多层次的综合实验,实验难度较大。综合性实验强调基本技术的综合运用,应特别注意学生综合能力的培养。研究性实验是在教师的指导下,学生自己设计题目,独立开展实验,重点培养学生的创新意识和创新能力。因此,不可能为同学们提供现成的实验研究方案,否则,就无创新可言。本书提供的 8 个研究性实验题目是以编者所在单位的教学与研究为基础、考虑到细胞学基本实验技术和学生科研能力的实际而提出的几个研究方面,局限性很大,只是想到抛砖引玉、启发学生思维的作用,各校要根据自己的实际开拓新的价值更大的研究项目,每位学生也要展开想像的翅膀,大胆设想,广泛搜集资料,周密设计方案,独立开展研究。相信同学们

一定会有所突破,有所创新,在细胞生物学实验研究中,获得创造与成功的喜悦,体验科学研究的艰辛。

本书编写力求少而精,但是,由于作者水平所限,内容仍显冗杂,且多有谬误,敬请各校在使用时酌情选用,批评指正。编写过程中参阅了国内外同行的大量资料,得到了众多师长朋友的帮助,尤其是山东师范大学冯静仪教授曾经为本书中的不少基础实验的开设和改进做了大量的工作,值本书付梓之际,深表谢忱。

编者
2004年8月

目 录

出版说明

前言

第一部分 基础性实验

第一章 细胞形态与结构的观察技术·····	(1)
实验 1 普通光学显微镜的结构及使用·····	(2)
实验 2 血涂片的制备和细胞大小的测量·····	(11)
实验 3 石蜡切片的制作及 HE 染色·····	(13)
实验 4 特殊显微镜的使用·····	(17)
实验 5 激光扫描共聚焦显微镜的原理与使用·····	(22)
实验 6 透射式电子显微镜的原理与使用·····	(25)
实验 7 扫描电子显微镜的结构、原理及样品制备·····	(30)
第二章 细胞化学·····	(32)
实验 8 脂类的细胞化学·····	(32)
实验 9 核酸的细胞化学·····	(35)
实验 10 糖类的细胞化学·····	(39)
实验 11 蛋白质的细胞化学·····	(42)
实验 12 酶的细胞化学·····	(44)
第三章 细胞膜生理·····	(50)
实验 13 细胞膜的通透性·····	(50)
实验 14 植物凝集素对红细胞的凝集作用·····	(52)
实验 15 小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬实验·····	(53)
实验 16 死活细胞鉴别·····	(54)
第四章 细胞增殖与染色体制备技术·····	(56)
实验 17 有丝分裂·····	(56)
实验 18 减数分裂·····	(57)
实验 19 动物骨髓细胞染色体标本的制备·····	(60)
实验 20 植物根尖染色体标本的制备·····	(62)

第五章 细胞培养..... (64)
 实验 21 原代培养 (65)

第二部分 综合性实验

实验 22 细胞器的分离与观察 (69)
实验 23 纺锤体的免疫荧光标记 (71)
实验 24 免疫荧光方法显示植物细胞的微管 (75)
实验 25 人微量外周血淋巴细胞培养及其染色体标本的制备 (78)
实验 26 染色体分带技术 (81)
实验 27 传代细胞培养及其增殖动力学检测 (84)
实验 28 细胞融合 (88)
实验 29 细胞凋亡 (90)

第三部分 研究性实验

实验 30 水生动动物黏液细胞的分布 (95)
实验 31 染色体技术在生物分类中的应用 (95)
实验 32 利用染色体畸变与微核试验进行安全毒理评价和环境检测..... (96)
实验 33 生物活性物质对巨噬细胞吞噬及其酶活性的影响 (97)
实验 34 中药对肝脏的保护作用 (98)
实验 35 多糖对淋巴细胞转化的影响 (99)
实验 36 诱导肿瘤细胞发生凋亡的有效成分的筛选 (101)
实验 37 抑制肿瘤细胞增殖的有效成分的筛选 (102)

附录..... (105)
 实验报告例文一..... (105)
 实验报告例文二..... (107)
 实验报告例文三..... (110)

参考文献..... (115)

第一部分

基础性实验

第一章 细胞形态与结构的观察技术

细胞形态与结构的观察技术主要包括生物制片和观察两个方面的技术。

多数的生物组织是由多层细胞构成的,要想在显微镜下对其结构进行观察,首先必须将其分离成单个细胞或薄片,固定于一定的载体(如玻片)上,经染色等处理,使其结构更易观察,对生物材料的这一处理过程称为生物制片。生物制片的方法可分为切片法和非切片法两大类。

生物组织往往比较柔软,不易被切成薄片。切片法就是用某种介质包埋生物组织或利用物理的方法使组织获得一定的硬度,再用切片机将组织切成薄片,经染色等处理制成玻片标本。根据所用包埋介质的不同,可分为石蜡切片法、冰冻切片法和超薄切片法等,石蜡切片和冰冻切片用于光学显微镜观察,超薄切片用于电镜观察。切片法一般包括取材、固定、包埋、切片、染色、封存等主要步骤。取材是根据研究与实验的目的选取相应的生物组织,要尽可能取新鲜生物材料,最好是活体组织,以最大限度反映其真实的生活状态下的结构。生物组织中含有各种酶,取材后若不及时处理,材料就会腐败变质。固定就是把从生物体取下的新鲜组织及时放入固定剂中,通过化学试剂的作用使酶的活性灭活或降低,使组织细胞的形态结构得到保持。常用的固定剂包括甲醛、乙醇、醋酸、戊二醛、锇酸等能够使蛋白质变性的化学试剂。包埋是使组织材料硬化的过程,用于石蜡切片的包埋剂是石蜡,超薄切片的包埋剂常用的是环氧树脂。硬化了的材料就可以用切片机切成很薄的切片了。由于组织或细胞的许多结构在自然状态下是无色或浅色的,大部分组织须经染色后才能使结构显现出来。染色就是利用染色剂与细胞内含物的物理与化学作用,将细胞和组织的不同结构染成各种不同的颜色或不同的颜色深度,以便于观察。

非切片法是不经过切片,用物理或化学方法将生物组织分离成单个细胞或薄片,或将生物体整体封藏进行制片的一种方法。非切片法简单易行,快速方便。常用的非切片法有涂片法、压片法、滴片法和印片法等。涂片法就是将组织或细胞均匀地涂在载玻片上,经染色后观察,动物的血液、骨髓、精液以及植物花粉母细胞等可用涂片法制片。压片法是将一些柔软的材料(如果蝇或摇蚊幼虫的唾液腺、植物的根尖等)在载玻片上压碎的一种非切片法,观察有丝分裂过程或制备染色体标本,可采用此法制片。滴片法是将组织或细胞解离成细胞悬液,直接滴到载玻片

上。骨髓细胞、体外培养细胞、肝组织、脾脏、生殖腺、早期胚胎等,均可制成细胞悬液,用滴片法制片。制备动物染色体标本时也常采用滴片法。印片法是将新鲜组织的表面或切面向载玻片上印一下,细胞即被沾在载玻片上,经染色后即可观察。

根据保存时间的长短,生物制片又可以分为临时制片和永久制片。临时制片适合于临时性的观察,生物材料往往不需要进行固定、脱水与封固处理。永久制片可以长期保存,便于以后用其进行研究和教学,必须要对生物材料进行固定、脱水与封固处理。

细胞的体积较小,用肉眼无法看到,必须借助显微镜。光学显微镜的发明导致了细胞的发现,促进了细胞生物学的发展,至今仍然是细胞学研究的最基本和最常用仪器。在普通光学显微镜的基础上,进一步发展出了荧光显微镜、暗视野显微镜、相差显微镜等多种有特殊功能的显微镜,使显微镜的功能得到了拓展。由于受照射光波长的限制,光学显微镜的分辨率较低,不能观察细胞内部的细微结构。电子显微镜是以波长很短的电子束为光源,分辨率得到了极大提高,它的诞生使人们发现了细胞的超微结构。随着扫描隧道显微镜、激光共聚焦显微镜等一系列新型显微镜的发展,使细胞的观察技术提高到了一个崭新水平。

实验 1 普通光学显微镜的结构及使用

【目的要求】

1. 了解普通光学显微镜的工作原理,掌握光学显微镜的使用方法。
2. 熟悉光镜下细胞的基本形态与结构。

【实验原理】

复式显微镜是由位于同一光轴的两个正透镜——物镜和目镜组成的最普通的一种显微镜。它主要由光学和机械两大系统构成。

一、光学系统及其工作原理

显微镜的光学系统由物镜、目镜、聚光器、光源等部件组成,包括两条光路:成像光路和照明光路。

1. 显微镜的放大原理

显微镜是根据透镜成像的原理,对微小物体进行放大的(图 1-1)。当被检物体 AB 放在物镜前方的 $1\sim 2$ 倍焦距之间,光线通过物镜在镜筒中形成一个倒立的放大实像 A_1B_1 ,这个实像恰好位于目镜的焦平面之内,通过目镜后形成一个放大的倒立虚像 A_2B_2 。通过调焦装置使 A_2B_2 落在人眼睛的明视距离(250 mm)处,使眼睛所看到的物体最清晰。即倒立虚像 A_2B_2 是在眼球晶状体的两倍焦距之外,通过眼球后,在视网膜形成一个正立实像 A_3B_3 ,被放大的倒立虚像 A_2B_2 与视网膜上正立实像 A_3B_3 是相吻合的。

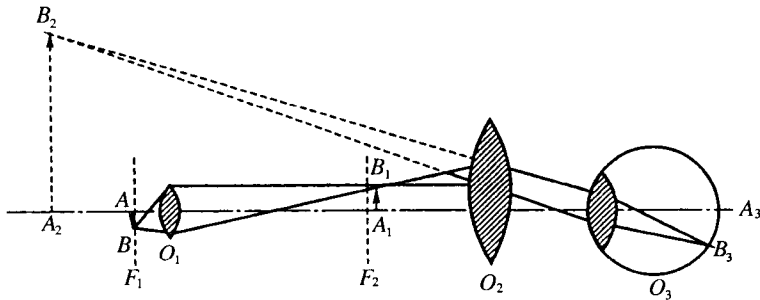


图 1-1 光学显微镜的放大原理和光路图(引自汪德耀)

O_1 物镜; O_2 目镜; O_3 眼球; F_1 物镜的前焦点; F_2 目镜的前焦点

2. 显微镜的照明原理

显微镜的照明光路根据设计不同,有两种类型的照明方式:一种简单的照明方式称为临界照明(critical illumination),即在光源和物体之间设有一个简单的聚光器,调节这个聚光器的位置可使光源灯丝的像聚焦并且叠加在标本平面上,所以标本照明不均匀;另一种为科勒照明(Köhler illumination)系统,在照明光路中除有聚光器外,还在放置光源的灯室内设有集光器(图 1-2)。经过科勒照明光路后,光源灯丝的像就不再叠加在标本平面上,而是在标本平面上呈现一个照明区,这个照明区实际上是视场光阑经聚光器后在标本平面上的成像。所以,通过调节聚光器的位置,可使照明区的边界聚焦清楚;通过调节视场光阑的大小,可改变照明区的大小;通过调节聚光器上的调中螺旋,可调节照明区的位置。

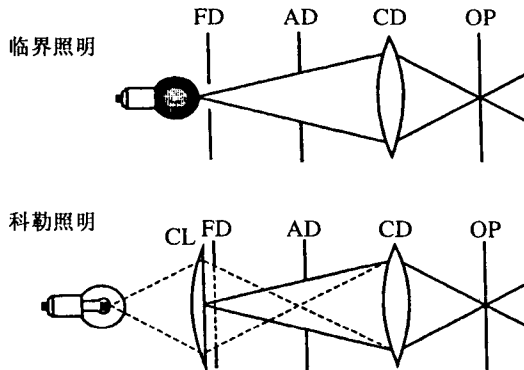


图 1-2 临界照明和科勒照明(引自林加涵等)

CL 集光器; FD 视场光阑; AD 孔径光阑; CD 聚光器; OP 载物台

科勒照明比临界照明优越之处表现在: 其一是照明均匀,因为在标本平面上成像是视场光阑而不是灯丝;其二是通过调节视场光阑的大小和位置可以控制标本平面上照明区的大小和位置。当只需要观察或测量标本的一部分时,通过缩

小视场光阑,就可以减少照明区域,使标本的其他部分不受热,并且减少了杂散光的干扰。所以这种照明方式已普遍用于显微镜,成为显微观察、显微摄影、相差显微镜等必不可少的一环。

二、光学显微镜的主要性能参数

显微镜的主要性能包括分辨率、放大率、清晰度、焦点深度、镜像亮度和视场亮度等。

1. 分辨率

分辨率(resolving power)也称分辨力,是指在 25 cm 的明视距离处能区分开被检物体上两个相近质点间的最小距离。分辨率是评价各种显微镜识别微观物像的能力的重要指标。分辨率越小,说明显微镜的分辨能力越高。显微镜的分辨率和物镜的数值孔径(numerical aperture, $N. A.$, 也称镜口率)、照明光线的波长有直接关系,计算公式为:

$$R = \frac{0.61\lambda}{N. A.} = \frac{0.61\lambda}{n \cdot \sin(\alpha/2)}$$

上式中 R 为分辨率, λ 为照明光线波长, $N. A.$ 为物镜的数值孔径, n 为介质的折射率, α 为镜口角(也称孔径角、视锥顶角)。镜口角是指位于物镜光轴上的物点发出的光线延伸到物镜前透镜有效直径的两端所形成的夹角(图 1-3)。镜口角越大,进入物镜的光线越多,理论上 $\sin(\alpha/2)$ 的最大值为 1。

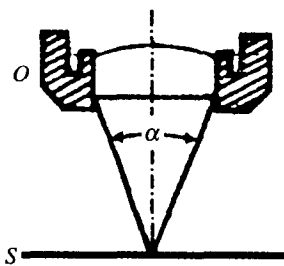


图 1-3 物镜的镜口角
O 物镜; S 标本; α 镜口角

目前在实用范围内物镜的最大数值孔径为 1.4, 而可见光最短的波长为 $0.4 \mu\text{m}$, 代入公式则:

$$R = 0.61 \times 0.4 / 1.4 = 0.17$$

由此可知,光学显微镜最大的分辨率约为 $0.2 \mu\text{m}$,差不多等于可见光最短波长的一半。

从上式可知,要增加分辨能力(即减小分辨率)有两个办法:一是增大数值孔径,二是缩短照明光波长。由于数值孔径受介质折射率和透镜镜口角的限制,它的数值是有一定限度的,只有缩短光源的波长,才是最有效的办法。

2. 放大率与有效放大倍数

放大率也称放大倍数。显微镜的总放大倍数等于目镜和物镜放大倍数的乘积。公式如下:

$$M = M_{ob} \times M_{oc} = \frac{\Delta}{f_1} \times \frac{250}{f_2}$$

式中: M ——总放大倍数

M_{ob} ——物镜放大倍数

M_{oc} ——目镜放大倍数	Δ ——光学筒长(单位: mm)
f_1 ——物镜焦距(单位: mm)	250——明视距离(单位: mm)
f_2 ——目镜焦距(单位: mm)	

由公式可知,物镜的放大率是对一定镜筒长度而言的,镜筒长度的变化,不仅导致放大率变化,而且成像质量也受到影响。因此,显微镜的镜筒长度是一定的。标准机械筒长是从镜筒的目镜管上缘至物镜螺旋肩的距离,以 mm 表示。显微镜生产厂家将标准机械筒长标刻在物镜的外壳上,现在主要有两种标准,即 160 mm 和 170 mm。标准光学筒长是指目镜的前焦点与物镜的后焦点之间的距离。一般光学筒长略大于机械筒长。

适宜的总放大率是所用物镜数值孔径的 500~1 000 倍,在此范围内称为有效放大倍数。如果高于上述范围,为空放大,即无法分辨细微结构;如果低于上述范围,则因放大率过低,难以观察。

3. 清晰度

清晰度是指显微镜形成轮廓明显物像的能力。影响物像清晰度的主要因素是物镜。由于照明光的光谱成分不同会造成色差以及透镜本身所造成的球面像差,所以像差总是难免的。同一光学系统中,放大倍数越高,像差就越大。要提高物像的清晰度,必须使用高数值孔径的物镜,并匹配低倍的目镜,而不应单纯增加目镜的放大倍数。

加大光学筒长虽然可提高总放大倍数,但影响物镜的成像清晰度。显微镜的机械筒长是一定的,但盖玻片过厚或过薄都会导致光学筒长的变化。使用数值孔径较低的物镜时,成像质量很少受盖玻片厚度的影响;但使用数值孔径较高的物镜时,如果盖玻片过薄(厚度小于 0.15 mm),则影响物镜的成像质量。因为物镜对盖玻片的厚度是有一定要求的,而且是按照标准盖玻片的厚度设计的。国际上统一规定标准盖玻片的厚度为 0.17 mm,通常这一数字也标刻在物镜的外壳上。

4. 焦点深度

当显微镜对标本的某一点或平面聚焦时,焦点平面上下物像清晰的距离或深度就是焦点深度。其计算公式为:

$$T = \frac{K \cdot n}{M \cdot NA}$$

式中: T ——焦点深度
 M ——显微镜的总放大倍数
 NA ——物镜的数值孔径
 K ——常数,约等于 0.24
 n ——被检物体周围介质的折射率

从上式可知,焦点深度与总放大率和镜口率成反比,因此,高放大率和高镜口率的显微镜其焦深就浅,不能看到标本的全厚度。必须调节螺旋仔细地从上到下进行观察。另外,被检物体周围介质(封片剂)的折射率加大可增大焦深。尤其在显微摄影时,更应考虑封片剂的使用。

5. 镜像亮度和视场亮度

镜像亮度是显微镜的图像亮度的简称,指在显微镜下所观察到的图像的明暗程度。镜像亮度与镜口率的平方成正比,与总放大倍数成反比。使用显微镜时,对镜像亮度的要求一般是使眼睛既不感到暗淡又不耀眼。

视场亮度是指显微镜下整个视场的明暗程度。视场亮度不仅与目镜、物镜有关,还直接受聚光器、光阑和光源等因素的影响。在不更换物镜和目镜的情况下,视场亮度越大,镜像亮度也就越大。

【实验用品】

人血涂片、蚕豆根尖切片、洋葱根尖切片、兔肝切片、鼠肝切片、蛙卵切片、马蛔虫受精卵装片、肌肉切片等。

【方法与步骤】

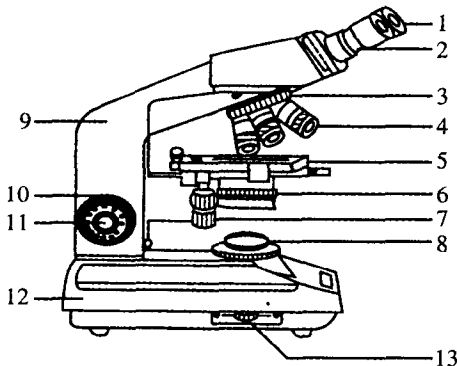
一、光学显微镜的构造

光学显微镜主要由机械系统和光学系统构成。

1. 机械系统

(1) 镜筒

镜筒是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(图 1-4)。根据镜筒的数目,光镜可分为单筒式、双筒式、三筒式、四筒式等多种。单筒光镜又分为直立式和倾斜式两种,直立式的目镜与物镜的中心线(光轴)在同一直线上;而倾斜式目镜与物镜的中心线成 45° ,在其镜筒中装有能使光线折射 45° 的棱镜。双筒光镜的镜筒均为倾斜式的;三筒式的 2 个目镜用于观察,另一个用于显微摄影;四筒式的由两个双筒目镜构成,可供两人同时观察。

图 1-4 光学显微镜主要结构示意图

- 1. 目镜;2. 镜筒;3. 物镜转换器;4. 物镜;
- 5. 载物台;6. 聚光器;7. 标本移动器螺旋;
- 8. 照明装置;9. 镜臂;10. 粗调螺旋;
- 11. 微调螺旋;12. 镜座;13. 电压调节钮

(2) 物镜转换器

物镜转换器又称旋转盘,是安装在镜筒下方的一圆盘状结构,可以按顺时

针或逆时针方向旋转,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物镜达到工作位置(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

镜臂是支持镜筒和镜台的弯曲状结构,是取用显微镜时握持的部位。镜筒直