

国家级实验教学示范中心
全国高等院校医学实验教学规划教材

医学生物学实验

总主编 郑葵阳
主 编 侯筱宇 蔡绍京



科学出版社

国家级实验教学示范中心
全国高等院校医学实验教学规划教材

医学生物学实验

总主编 郑葵阳

主 编 侯筱宇 蔡绍京

副主编 陆 梁 李 冲

编 者 (按姓氏笔画排序)

尹晓慧 刘 永 刘 静 关秋华 李 冲

宋远见 张 强 陆 梁 陈静华 周敬伟

侯筱宇 徐 浩 蔡绍京 颜景芝 魏建锋

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书整合细胞生物学、生物化学、分子生物学和医学遗传学 4 门课程的实验内容, 删除验证性实验, 精简基础性实验, 加强问题(或案例)为引导的综合性实验和探究性实验。本书包括四篇内容, 第一篇为医学生物学技术基本原理, 包括显微镜与细胞微观结构、生物大分子制备与分离技术、分光光度技术、放射性同位素技术和人类染色体的识别。同时还包括实验误差与数据处理的内容。第二篇为基础性实验, 共 14 个, 重在培养学生的基本操作技能。第三篇为综合性实验, 共 18 个, 重在培养学生综合运用不同实验技术解决问题的能力。第四篇为 2 个探究性实验的例子, 作为开展探究性实验的参考, 在其后附注了实验设计基本原则。最后的附录部分包括实验须知、实验记录及实验报告的书写、细胞生物学绘图、常用元素原子量表、实验室常用酸碱的比重和浓度等内容。

图书在版编目(CIP)数据

医学生物学实验 / 侯筱宇, 蔡绍京主编. —北京: 科学出版社, 2018.1

全国高等院校医学实验教学规划教材

ISBN 978-7-03-056012-4

I. ①医… II. ①侯… ②蔡… III. ①医学-生物学-实验-医学院校-教材 IV. ①R318-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 315117 号

责任编辑: 张天佐 胡治国 / 责任校对: 郭瑞芝

责任印制: 赵 博 / 封面设计: 张秀艳

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>

保定市中国画美凯印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2018 年 1 月第 一 版 开本: 720×1000 1/16

2018 年 1 月第一次印刷 印张: 12

字数: 290 000

定价: 42.00 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

总主编 郑葵阳

副总主编 蔡红星 侯筱宇 孙红 汤仁仙 刘莹

委员 (按姓氏笔画排序)

王阿明 乔伟丽 刘志安 刘慧

李冲 宋远见 张咏梅 徐明

郭栋 蔡绍京 魏建峰

丛书前言

知识爆炸、信息化时代已经到来。现代医学教育演变改革，历经百年，已发展到以岗位胜任力为导向的医学教育新时代。今天，如何适应新时代知识传授的新特点、能力培养的新要求，以及当代大学生学习模式的悄然转变，已经成为当代医学教育的核心问题之一。徐州医科大学自 2004 年开展以 CBL 为载体的教育教学改革、2012 年开展以医学生岗位胜任力为导向的内涵式质量提升工程，以学生为中心的自主式学习正在全面、有序展开。

医学是实践性很强的生命科学，基础医学的学习是大学生步入医学的起始阶段，基础医学实验训练对医学生职业素质的养成和后续的专业学习，都有着很大影响。因此，加强基础医学教学实验中心建设，提高实验教学质量，培养大学生实践创新能力具有重要意义。以培养适应国家及区域医药卫生事业发展和经济社会建设需要的高素质、高水平卓越医学人才为根本任务，从“育人为本、德育为先、能力为重、全面发展”的教育理念出发，树立“以学生为主体、以能力培养为核心”的实验教学观，徐州医科大学基础医学国家级实验教学示范中心对基础医学实验课程进行了优化设计，组织编写了一套新颖的实验教材。本套教材以案例作为引导，构建“理论实践相结合、基础临床相互渗透、教学科研相互促进”的实验教学体系；构建模块化、层次化、多元化满足学生自主学习的实验教学新模式。本套实验教材按照医学生物学实验课程群、正常人体形态学实验课程群、疾病基础实验课程群、医学机能学实验课程群和病原生物学与免疫学实验等五大课程群循序编排。在实验项目层次上，精简基础性实验和内容重复过多的实验，增加综合设计性实验和研究创新性实验比例，使学生通过实验课程学习，系统掌握从“分子”、“细胞”、“组织”、“器官”到“系统”；从形态到功能；从正常到异常；从疾病诊断到防治等一套完整的基础医学实验的知识与技能，为后续的学习和工作打下坚实的基础。

本套实验教材是徐州医科大学基础医学国家级实验教学示范中心全体老师辛勤劳动的结晶，是我校多年来教学改革成果体现。衷心感谢科学出版社对编写工作的热情鼓励和悉心指导。诚然，由于编者的学识、水平和能力的限制，难免存在诸多不足和遗憾，恳请广大专家、教师和学生提出宝贵意见与批评，为推动我国医学教育的发展共同努力。

郑葵阳

2017年12月

前 言

生物学是研究生物体的化学组成、结构、功能、发育和进化的科学，是现代医学的基石。现代生物学的进展有力地促进了医学的发展。医学生物学是基础医学、临床医学、公共卫生与预防医学、药学和检验医学等的基础。医学生物学的基础理论和进展是以实验为依据的，医学生物学实验技术的学习和应用是理解和发展现代医学的重要基础。

在长期培养医学类本科生的过程中，医学生物学的相关课程分别形成了各自独立的实验教学体系。各门课程独立开设的实验课，过于注重对理论知识的验证，同时不可避免地造成内容的重复。近年来，我们以岗位胜任力为导向，坚持“以学生为主体，以能力培养为核心”的实验教学观，依托基础医学国家级实验教学示范中心医学生物实验学分中心，开展实验教学体系和实验教学内容的改革，注重培养学生扎实的医学生物学基础实验技术、医学科学研究思维和创新能力。为配合实验教学体系和实验教学内容的改革，我们整合《细胞生物学》、《生物化学》、《分子生物学》和《医学遗传学》4 门课程的实验内容，删除验证性实验，精减基础性实验，加强问题（或案例）为引导的综合性实验和探究性实验。各门课程的教师通力合作、打破学科的界限，共同编写了这本《医学生物学实验》教材。

本教材包括 4 篇内容，第一篇为医学生物学技术基本原理，第二篇为基础性实验，重在培养学生的基本操作技能，为创新能力培养打下坚实的基础；第三篇为综合性实验，第四篇为探究性实验，不再侧重于“掌握”、“熟悉”或“了解”理论知识的层面，更重在培养学生解决问题、分析问题的能力。

本教材适用于普通高等学校医学类和生物学类等各专业本科生的实验教学，也可作为相关专业教师的教学参考用书。

编者

2017 年 11 月

目 录

第一篇 医学生物学技术基本原理

第一章 显微镜与细胞的微观结构	1
第一节 普通光学显微镜	1
第二节 细胞的超微结构	9
第二章 生物大分子制备与分离技术	14
第一节 生物大分子的基本制备技术	14
第二节 层析技术	19
第三节 电泳技术	29
第四节 离心技术	39
第三章 分光光度技术	42
第四章 放射性同位素技术	46
第五章 人类染色体的识别	52
第六章 实验误差与数据处理	57

第二篇 基础性实验

实验一 细胞的基本形态结构	62
实验二 细胞的显微结构与超微结构	67
实验三 细胞计数与显微测量	72
实验四 HEK293 细胞的传代培养、冻存与复苏	76
实验五 大鼠皮质神经细胞的原代培养	80
实验六 比色法测定蛋白质的含量	83
实验七 紫外吸收法测定蛋白质含量	88
实验八 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳测定未知蛋白质的分子量	90
实验九 兔肝基因组 DNA 的提取与纯化	95
实验十 PCR 技术扩增大鼠 Crybb2 基因	97
实验十一 DNA 琼脂糖凝胶电泳	99
实验十二 果蝇唾腺染色体标本的制备与观察	101
实验十三 人外周血淋巴细胞染色体标本制备	104
实验十四 人染色体 G 显带技术及 G 显带核型分析	106

第三篇 综合性实验

实验十五	兔肝组织细胞核和线粒体的分级分离	108
实验十六	氧化应激诱导 PC12 细胞凋亡	111
实验十七	血清蛋白的分离纯化与鉴定	114
实验十八	兔肝碱性磷酸酶的提取纯化与比活性测定	118
实验十九	碱性磷酸酶米氏常数的测定	125
实验二十	激素对血糖水平的调节作用	128
实验二十一	烟酸衍生物对血脂的影响	132
实验二十二	四氯化碳致急性肝损伤的组织学与肝功能检测	137
实验二十三	质粒的碱裂解法制备及电泳检测	141
实验二十四	大鼠 β -晶体蛋白 B2 在大肠埃希菌中的诱导表达	145
实验二十五	Southern Blot 技术检测人胶质瘤细胞 EGFR 基因的扩增	147
实验二十六	Northern Blot 技术检测大鼠 HIF-1 α mRNA 表达	152
实验二十七	Myc-PSD-95-PDZ1 融合蛋白在 HEK293 细胞中的表达	155
实验二十八	利用定点突变技术构建活化型 n-Src 的重组质粒	159
实验二十九	环磷酰胺对小鼠骨髓嗜多染红细胞的毒性作用	164
实验三十	人乳腺癌组织中 ERBB2 基因扩增的检测	166
实验三十一	人基因性别的鉴定	169
实验三十二	大鼠骨髓间充质干细胞成脂成骨的定向诱导分化	172

第四篇 探究性实验

例 1	脑缺血再灌注格尔德霉素神经保护作用的机制研究	175
例 2	EZH2 对大鼠骨髓间充质干细胞成脂成骨分化的影响	177

附录		181
----	--	-----

第一篇 医学生物学技术基本原理

第一章 显微镜与细胞的微观结构

第一节 普通光学显微镜

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。光学显微镜是生物科学和医学研究领域常用的仪器，在细胞生物学、组织学、病理学、微生物学及其他相关学科的教学研究工作中具有极为广泛的用途，是研究人体及其他生物机体组织细胞结构强有力的工具。

1590 年前后，荷兰的 Hans 父子研制出了放大 10 倍的原始显微镜；1665 年，英国物理学家 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 1-1-1）。除了广泛使用的普通光学显微镜外，还有相差显微镜、暗视野显微镜、荧光显微镜和倒置显微镜等具有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，但其基本构造和工作原理是相似的。

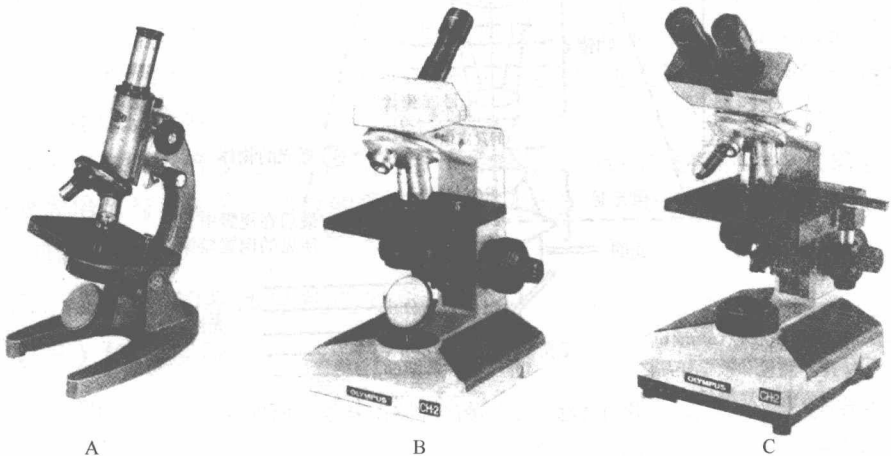


图 1-1-1 光学显微镜型号示例

A. 单筒直立式；B. 单筒倾斜式；C. 双筒倾斜式

一、显微镜的光学原理

一台普通光学显微镜（以下简称显微镜）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物镜、目镜、聚光器和反光

镜等部件。

显微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 1~2 倍焦距之间，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 25cm 处（图 1-1-2）。

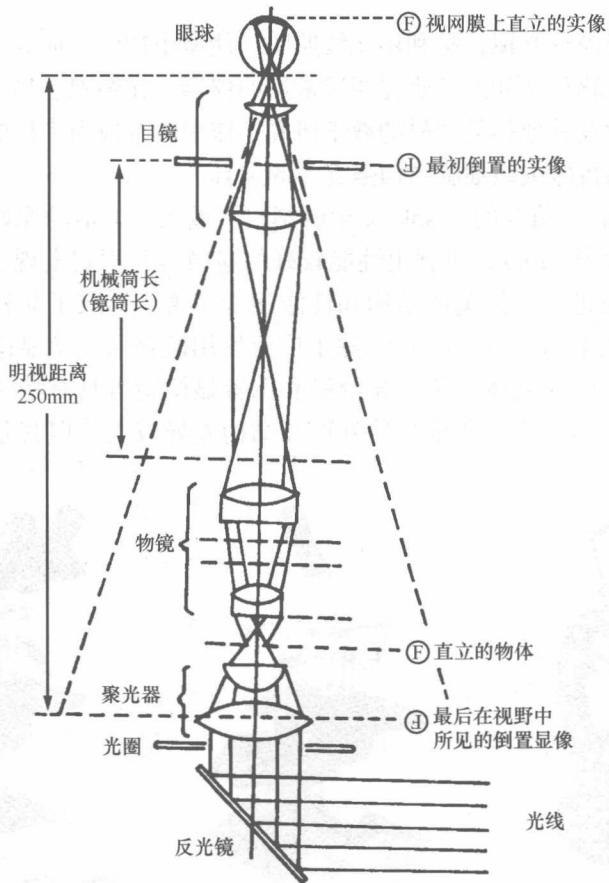


图 1-1-2 显微镜的光路图及放大原理

一台显微镜的性能和质量的高低是由多方面指标来反映的，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。

分辨率是光镜最重要的性能指标，是指在 25cm 的明视距离处，能区分开被检物体上两个质点间的最小距离。因此，分辨率越小，说明分辨能力越高。据测

定,人眼的分辨率约为 $100\mu\text{m}$,而光镜的分辨率可达 $0.2\mu\text{m}$ 。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,它只是将物镜已分辨的影像进行第二次放大。光镜的分辨率(R)可用下式计算:

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

式中 λ 为照明光源的波长,可见光的最短波长为 $0.4\mu\text{m}$ 。N.A.代表数值孔径,也称为镜口率,其数值等于物镜和被检样品之间介质的折射率(n)与孔径角(α)一半的正弦值的乘积,即 $\text{N.A.} = n \cdot \sin(\alpha/2)$ 。 n 的最大值为 1.5(香柏油为介质),孔径角是指位于透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,孔径角越大,进入物镜的光线越多, $\sin(\alpha/2)$ 的最大值为 1($\alpha = 180^\circ$)。将 λ 和 N.A.代入公式,可得 $R = 0.61 \times 0.4\mu\text{m} / 1.4 = 0.17\mu\text{m}$,即显微镜的最大分辨率约为 $0.2\mu\text{m}$ 。

由上式可知,物镜的 N.A.决定一台显微镜的主要光学性能,N.A.越大,分辨率就越小,显微镜的分辨能力就越强,显微镜的光学性能也越好。但 N.A.与焦点深度(即当显微镜对本标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,因此,并非 N.A.越大越好。物镜的 N.A.通常标刻在物镜的周缘。

使用低倍镜和高倍镜时,空气为介质, n 值为 1.00;使用油镜时,香柏油为介质, n 值为 1.50(n 的最大值)。因此,油镜的 N.A.大于低倍镜和高倍镜,即油镜的分辨能力强于低倍镜和高倍镜。目前,在实用范围内,物镜(油镜)的最大 N.A.为 1.4。另外,由于空气与玻片的密度不同,当光线通过玻片与物镜镜头间的空气介质时,发生散射,降低了视野的照明度;而玻片和香柏油的折射率相近,当光线通过时,几乎不发生折射,增加了视野的进光量,故使用油镜观察标本时,物像更加清晰。

放大率或放大倍数是光镜性能另一重要参数,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。常用光镜最大放大倍数为 $10(\text{目镜}) \times 100(\text{油镜}) = 1000$ 倍。

二、显微镜的基本结构与功能

(一) 机械系统

1. 镜筒 是安装在显微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 1-1-3)。根据镜筒的数目,显微镜可分为单筒式和双筒式两类。单筒显微镜又分为直立式和倾斜式两种,而双筒显微镜的镜筒均为倾斜式的。

2. 物镜转换器 又称为旋转盘,是安装在镜筒下方的圆盘状结构,可顺时针或逆时针方向旋转,其上均匀分布有 3~4 个圆孔,可装不同放大倍数的物镜。转动物镜转换器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。

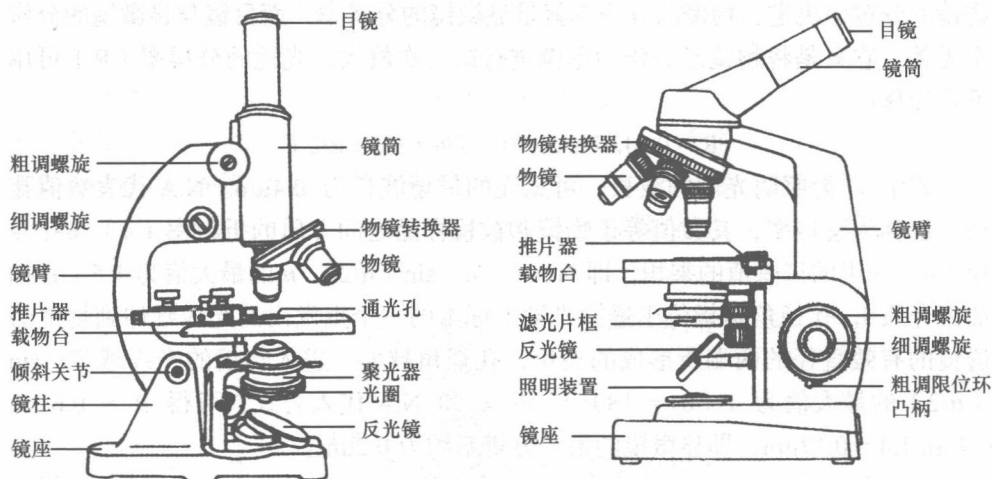


图 1-1-3 显微镜结构示意图

3. 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。镜筒直立式显微镜在镜臂与其下方的镜柱之间有一倾斜关节，此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，由于重心偏移，显微镜容易翻倒。

4. 调焦器 也称为调焦螺旋，是调节焦距的装置，位于镜臂的上端（直立式镜筒）或下端（倾斜式镜筒），分为粗调螺旋（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，适用于低倍镜观察时的调焦。细调螺旋只能使镜筒或载物台缓慢升降，升或降的幅度不易被肉眼观察到，适用于高倍镜和油镜的焦距精细调节，也用于观察标本的不同层次。

5. 载物台 也称为镜台，是位于物镜转换器下方的方形平台，用于放置被观察的玻片标本。载物台的中央有圆形的通光孔，来自下方的光线经此孔照射到标本上。在载物台上装有标本移动器，也称为推片器，其上安装的弹簧夹用于固定玻片标本，旋动推片器的两个螺旋可使玻片标本前后或左右移动。

在推片器上附有纵、横游标尺，用以标记标本的位置。游标尺由主标尺（A）和副标尺（B）组成，副标尺的分度为主标尺的 $9/10$ 。使用时，先看副标尺的 0 点位置，再看主、副标尺刻度线的重合点，依据重合点即可读出准确的数值，如图 1-1-4 中所示的数值应为 26.4。

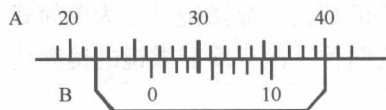


图 1-1-4 游标尺的用法

6. 镜柱 是连接镜臂与镜座的短柱。

7. 镜座 位于最底部，是整套显微镜的基座，用于支持和稳定镜体。

(二) 光学系统

包括目镜、物镜、聚光器、反光镜等。

1. **目镜** 又称为接目镜, 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。每台显微镜通常配制 2~3 个不同放大倍数的目镜, 如“5×”、“10×”和“15×”(数字表示放大倍数)目镜, 可根据不同需要选择使用, 最常用的是“10×”目镜。为方便指示视野中的某一结构, 可将一小段细金属丝或头发黏附在目镜内视场光阑上作为指针; 另外, 还可在视场光阑上安装目镜测微尺。

2. **物镜** 也称为接物镜, 安装在物镜转换器上。每台显微镜一般有 3~4 个不同放大倍数的物镜, 物镜是显微镜最主要的光学部件, 决定显微镜分辨率的高低。常用物镜的放大倍数有“10×”、“40×”(或“45×”)和“100×”等几种。一般将“4×”、“10×”物镜称为低倍镜, 将“40×”或“45×”物镜称为高倍镜, 将“100×”物镜称为油镜(这种镜头在使用时其顶端需浸在香柏油中)。在每个物镜的周缘通常都标有能反映其主要性能的参数(图 1-1-5), 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, 单位为 mm); 另外, 在油镜上还常标有“油”或“oil”字样。

不同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(图 1-1-5)。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, 只需旋动细调螺旋, 便可见到清晰的物像。不同放大倍数的物镜可从外形上区分, 一般来说, 低倍镜镜身最短, 油镜镜身最长, 而高倍镜的镜身长度介于两者之间。

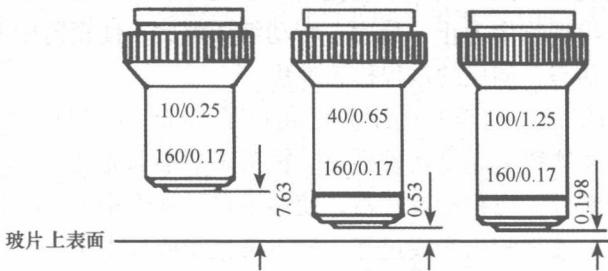


图 1-1-5 物镜的性能参数及工作距离

两箭头间距离为工作距离, 单位为 mm

3. **聚光器** 位于载物台通光孔的下方, 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。在多数显微镜, 聚光器的左下方有一调节螺旋, 用以升降聚光器; 升高聚光器可使光线增强, 反之则光线变弱。

4. **光圈** 位于聚光器下面的圆环内, 由一组金属薄片组合排列而成, 拨动其外侧的小柄, 可使光圈的孔径开大或缩小, 以调节光线的强弱。有的显微镜, 光圈下方有滤光片框, 可放置不同颜色的滤光片。

5. **反光镜** 位于聚光器的下方, 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。反光镜有平、凹两面: 凹面镜有聚光作用, 适于弱光和散射光下使用; 光线较强时则选用平面镜。

三、显微镜的使用方法要领

(一) 低倍镜的使用

1. **准备** 取用显微镜时, 应右手握镜臂, 左手托镜座, 将显微镜平稳地放置在自己座位稍偏左的实验台上, 镜座后缘离实验台边缘 3~6cm。

2. **调光** 转动粗调螺旋, 稍升高镜筒 (或使载物台稍下降), 转动物镜转换器, 使低倍镜转动到位 (即低倍镜头对准通光孔), 当镜头完全到位时, 可听到轻微的顿挫声。开大光圈, 上升聚光器到适当位置 (以聚光器上方透镜平面稍低于载物台平面的高度为宜), 将反光镜凹面转向光源; 然后, 左眼自目镜观察 (勿闭右眼), 同时调节反光镜的角度, 使视野内的光线均匀、亮度适中。如果使用带电光源的显微镜, 则使用调光螺旋调节光亮度。

3. **装片** 取需要观察的玻片标本, 先对着光线用肉眼观察, 了解标本的全貌; 然后, 将其有盖玻片的一面朝上, 放置到载物台上, 用推片器上的弹簧夹固定好; 最后, 旋动推片器的螺旋, 使需要观察的标本部位处于通光孔的中央。

4. **调焦** 用眼睛从侧面注视低倍镜头与玻片的距离, 同时调节粗调螺旋使载物台上升 (或镜头下降), 直至低倍镜头与玻片标本的距离约为 0.5cm; 然后, 左眼自目镜观察, 同时用左手慢慢转动粗调螺旋使载物台下降 (或使镜头上升) 直至视野中出现物像为止; 最后, 转动细调螺旋, 使视野中的物像清晰。此种状态称为准焦状态, 调焦的过程称为准焦。

调焦时, 如果镜头与玻片的距离已超过了 1cm 还未见到物像, 应查找原因, 加以纠正: ①物镜未完全转动到位, 镜头未对准通光孔, 应转动到位后再观察; ②标本在视野外, 应移动推片器, 使标本移至视野中央; ③粗调器转动过快, 越过了焦点; ④视野内光线过强, 标本染色浅或标本未染色, 应将光线适当调暗。不管是何种原因, 都应严格按上述调焦步骤重新操作。

(二) 高倍镜的使用

1. **选择目标** 在使用高倍镜前, 应先用低倍镜寻找到需进一步观察的物像, 并将其移至视野中央。

2. **换用高倍物镜** 为防止镜头碰撞玻片, 转动物镜转换器时, 要从显微镜的侧面注视, 缓慢地将高倍镜转动到位, 即高倍镜头对准通光孔。

3. 调焦 高倍镜转动到位后,左眼自目镜观察,视野中一般可见到不太清晰的物像。此时,只需稍稍调节细调螺旋,便可使物像清晰。若视野内亮度不够,可上升聚光器、开大光圈。

如果换用高倍镜时,镜头碰到玻片,不可强行转动,应查找原因并加以纠正。常见原因包括:①玻片放反;②玻片过厚;③高倍镜头松动;④低倍镜下焦距未调好等。如果排除这些因素后,高倍镜头仍碰到玻片,则为非原装高倍镜——镜头过长。此时应先将载物台下降或使镜筒升高后再转换高倍镜头,然后在眼睛的注视下使高倍镜接近盖玻片,最后边自目镜中观察,边用粗调螺旋缓慢地使载物台下降或使镜筒升高,看到物像后再用细调螺旋准焦。

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视野中心往往存在一定的偏差。因此,在从低倍镜转换到高倍镜观察标本时,常会给观察者迅速找到标本造成一定困难。解决这个问题的方法为,利用羊毛交叉装片来测定所用显微镜的偏心情况,并绘图记录制成偏心图,依据偏心图,指导高倍镜的使用。具体操作步骤是,在高倍镜下找到羊毛交叉点并将其移至视野中央,换低倍镜观察羊毛交叉点是否还位于视野中央;如果偏离中央,其所在的位置就是偏心位置。将以上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。在使用该台显微镜的高倍镜观察标本前,应在低倍镜下将需进一步放大的物像移至偏心位置,再转换高倍镜观察,这样,所需观察的目标就正好处在视野中央了。

(三) 油镜的使用

1. 选择目标 用低倍镜或高倍镜找到需观察的标本物像,并将需要进一步放大的物像移至视野中央。

2. 调光 将聚光器上升至较高位置并将光圈开至最大(油镜所需光线较强)。

3. 换用油镜 转动物镜转换器,移开低倍镜或高倍镜,在玻片标本上需观察的部位滴一滴香柏油,然后在眼睛的注视下,将油镜转动到位,此时油镜的下端应正好浸在油滴中或与油滴接触。有的显微镜油镜头过长,油镜头不能转到位,此时可先稍稍下降载物台或上升镜筒,再将油镜头转到位,使油镜头下端浸入油滴中。

4. 调焦 左眼注视目镜,同时小心而缓慢地转动细调螺旋使载物台下降或使镜头微微上升,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,以免镜头压碎标本或镜头损坏。

在使用油镜过程中,如需更换观察目标,为防止高倍镜头沾油,可不用高倍镜观察,即低倍镜观察目标后直接换用油镜。镜筒直立式显微镜加香柏油时,应使载物台保持水平状态。

5. 擦拭 油镜使用结束后,必须及时将镜头上的油擦拭干净。擦拭前,应

将镜筒升高约 1cm，并将油镜头转离通光孔；擦油镜头时，先用擦镜纸蘸少许二甲苯擦 2 次，再用干净的擦镜纸擦 1 次。置于玻片上的油，如果是有盖玻片的永久制片，可直接用上述擦油镜头的方法擦净，但不要太用力，否则二甲苯会溶解封片剂，使盖玻片松动；如果是无盖玻片的标本，则用拉纸法除去载玻片上的油，即先把一小片擦镜纸盖在含油玻片表面，再向擦镜纸上滴几滴二甲苯，趁湿将擦镜纸向一侧拉，如此反复几次，即可将玻片上的油除去。

（四）显微镜使用的注意事项

1. 取用显微镜时，应轻拿轻放。一手紧握镜臂，另一手托住镜座；禁用单手提拿，以避免零部件滑落。

2. 显微镜不可放置在实验台的边缘，应使镜座后缘离实验台边缘 3~6cm。课间离开座位时，应将显微镜的倾斜关节复原，镜头转离通光孔。

3. 不可随意拆卸显微镜上的零部件，以免丢失或损坏；目镜也不要随便取出，以防灰尘落入镜筒。

4. 要经常保持显微镜的清洁，显微镜的光学部分只能用擦镜纸轻轻擦拭，不可用纱布、手帕、普通纸张或手指擦拭，以避免磨损镜面。

5. 使用镜筒直立式显微镜时，可使镜筒倾斜一定角度以方便观察，但倾斜角度不应超过 45°，以防重心后移、显微镜倾倒。在观察带有液体的临时装片时，镜筒不能倾斜，以避免由于载物台倾斜而使液体流到载物台上。

6. 使用高倍镜和油镜时，切勿一边在目镜中观察，一边转动粗调螺旋上升载物台或下降镜筒，以避免镜头与玻片相撞，损坏镜头或玻片标本。正确做法是，转动粗调螺旋的同时，从显微镜的侧面注视着镜头与载物台逐渐接近。转动物镜转换器时，也应从显微镜的侧面注视。

7. 使用高倍镜和油镜观察，需更换标本片时，应先转动粗调螺旋升高镜筒或下降载物台，使镜头与载物台间距离拉开，然后再取下标本片。

8. 在目镜上观察标本时，要养成两眼同睁、双手并用（左手转动调焦螺旋，右手移动推片器）的习惯，必要时应一边观察、一边计数或绘图。如果两眼同睁观察不习惯，可先用手挡住右眼，等左眼看清视野后再逐渐放开右眼。双眼同睁观察，既可防止眼睛疲劳，又方便绘图。

9. 如需同老师或同学讨论视野中的某一结构，可用推片器将该结构移至指针尖端处；如果镜中未装指针，可将视野看成一个周缘带有刻度的钟面（如 3 点、6 点、9 点、12 点等），说明该结构位于钟面的几点钟位置。

10. 显微镜使用结束后应及时复原：先上升镜筒或下降载物台，取下标本片，物镜转离通光孔（镜筒倾斜的显微镜，恢复直立状态）；然后，下降镜筒或上升载物台，使物镜与载物台相接近；使反光镜处于垂直位，下降聚光器，关闭光圈。最后，将显微镜放回镜箱中或送还显微镜室。

第二节 细胞的超微结构

普通光学显微镜的分辨力约为 $0.2\mu\text{m}$ ，细胞膜、内质网膜和核膜的厚度，核糖体、微体、微管和微丝的直径等均小于 $0.2\mu\text{m}$ ，因而用普通光学显微镜观察不到这些细胞结构。要观察这些细胞结构，必须用分辨率更高的电子显微镜。电子显微镜下观察到的这些细胞结构，称为超微结构或亚显微结构，通常也称为电镜结构。熟练辨认细胞中各部分超微结构，加深理解细胞超微结构与功能的关系，是进行细胞结构和功能研究的基本要求。

一、细胞膜

细胞膜 (cell membrane) 曾专指质膜，即将细胞内外环境分开的一层单位膜，现泛指细胞质和细胞器的界膜。在人红细胞质膜的电镜照片上，可见位于细胞最外缘的质膜呈三层结构，内外两层为电子密度较高的致密层 (深色)，两层之间为电子密度较低的疏松层 (浅色)，这三层结构称为单位膜 (unit membrane)，总厚度为 $14\sim 25\text{nm}$ ，单位膜是生物膜的基本结构 (图 1-1-6)。

二、细胞核

细胞核 (nucleus) 大多位于细胞的中央 (图 1-1-7)，按其结构和功能的不同可分为核膜、染色质、核仁和核基质等几部分：

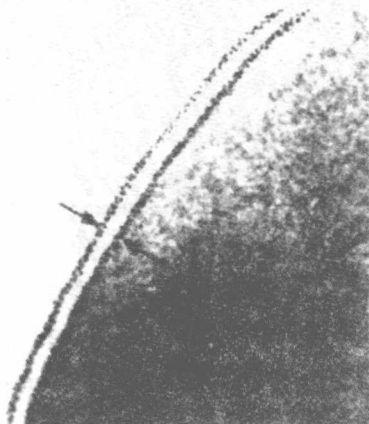


图 1-1-6 细胞膜的超微结构

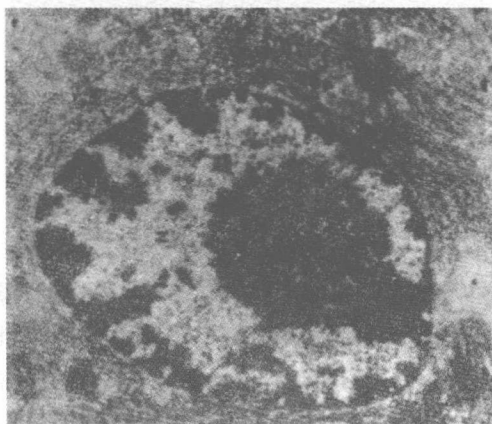


图 1-1-7 细胞核的超微结构

1. 核膜 电镜下，核膜 (nuclear membrane) 由内核膜、外核膜两层单位膜及两者之间的核周间隙构成 (注意：不要将此结构误认为单位膜的三合板式结构)。外核膜外表面有颗粒状核糖体附着，并与内质网相连，核周隙与内质网腔相通。内核膜、外核膜融合形成均匀分布的核孔，核孔是细胞核与细胞质之间物质交换的通道。

2. 染色质 (chromatin) 是间期细胞核中能被碱性染料着色的物质，根据其形态和功能分为两类：常染色质 (euchromatin) 和异染色质 (heterochromatin)。