

高等医药院校教材
供临床医学等专业用

医学细胞生物学 实验指导

第2版

主编 杨康鹃 王振华

普通高等教育“十一五”
国家级规划教材

医学细胞生物学 实验指导

第2版

主编 王树勋 副主编 王树勋

人民卫生出版社

高等医药院校教材
供临床医学等专业用

医学细胞生物学实验指导

第2版

主 编 杨康鹏 王振华

副主编 朱金玲 杨国华 黄 健

潘智芳 霍满鹏

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目(CIP)数据

医学细胞生物学实验指导/杨康鹏等主编. —2 版.

—北京:人民卫生出版社, 2010. 11

ISBN 978 - 7 - 117 - 13611 - 2

I. ①医… II. ①杨… III. ①医学 - 细胞生物学 - 实验 - 医学院校 - 教学参考资料 IV. ①Q2 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 201320 号

门户网: www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网: www.ipmph.com	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

医学细胞生物学实验指导

第 2 版

主 编: 杨康鹏 王振华

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010 - 59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010 - 67605754 010 - 65264830

010 - 59787586 010 - 59787592

印 刷: 北京铭成印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 7.5 插页: 1

字 数: 179 千字

版 次: 2005 年 8 月第 1 版 2010 年 11 月第 2 版第 8 次印刷

标准书号: ISBN 978 - 7 - 117 - 13611 - 2/R · 13612

定价(含光盘): 28.00 元

打击盗版举报电话: 010 - 59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)

前言

第 2 版

《医学细胞生物学实验指导》第 2 版是《医学细胞生物学》第 2 版教材的配套实验教材。本书的第 1 版在 2005 年由人民卫生出版社出版,在过去 5 年的使用过程中得到了高等医学院校广大师生的好评。为了适应 21 世纪高等院校要着力培养具备厚基础、强能力的创新型人才的教育目的,编写出适合高等医学院校使用的医学细胞生物学实验教材,再版编委会进行了充分讨论,对第 1 版进行了大的修改。但仍然遵循“三基”原则,既体现基本理论、基本概念、基本操作,又重视动手能力培养。

本实验教材的特点:吸纳目前国内高等医学院校开设的、与理论知识紧密相关的验证性实验项目 28 项,同时增设了 5 项综合性实验和 2 项设计性实验。

通过对使用第 1 版实验教材的院校师生进行的调查,发现各医学院校开设医学细胞生物学课程计划学时不同、开设实验时间不同、实验项目也不同。这些院校开设实验项目 60% 相同,40% 不同,在 40% 不同的实验项目中存在很大差距,凸显了教学水平的差距。为了提高实验教学质量,促进高校之间教学交流,第 2 版实验教材配备了实验教学 PowerPoint 课件。课件中收集了参编学校所负责编写的实验项目最佳的阳性结果图片,并有文字解释,达到图文并茂的目的。这样便于教师教学和学生预习,弥补学时少或实验条件不足导致的各学校差距,同时部分实验项目通过 PowerPoint 课件以示教形式进行,目的是将更多的时间用于综合性和设计性实验。

由于我们的水平和经验有限,加上编写时间十分仓促,有不足之处在所难免,祈望读者提出批评和指正。

杨康鵬 王振华

2010 年 6 月

目 录

常用实验动物的了解和解剖器械的使用	1
一、常用实验动物	1
二、常用手术器械及操作方法	2
细胞生物学实验室管理规则	3
细胞生物学实验报告书写和绘图要求	4
实验一 显微镜的结构和使用方法	6
一、普通光学显微镜的结构和使用方法	6
二、其他类型显微镜的工作原理、使用方法及应用范围简介	11
三、电子显微镜的工作原理、构造和电子显微镜样品的制备技术	12
实验二 细胞的基本形态结构观察及其细胞计数和显微测量	17
实验三 细胞器的观察	23
一、线粒体、高尔基复合体、中心体标本观察	23
二、线粒体活体染色标本制备及观察	24
三、细胞骨架标本的制备及观察	25
四、液泡系活体染色及观察	27
五、纤毛运动的标本制备及观察	27
实验四 细胞化学成分显示	29
一、细胞内碱性磷酸酶和酸性磷酸酶显示	29
二、细胞内碱性蛋白和酸性蛋白显示	31
三、过氧化氢酶的显示	32
四、DNA 与 RNA 的显示	34
实验五 细胞组分的分离与鉴定	36
实验六 细胞生理功能性实验	39
一、细胞吞噬活动观察	39

二、细胞活性的鉴定——酵母菌	40
三、细胞膜的通透性观察	40
实验七 细胞分裂标本制备及观察	43
一、植物细胞、动物细胞有丝分裂标本观察	43
二、植物细胞有丝分裂标本制备及观察	45
三、小鼠骨髓细胞染色体标本的制备及观察	46
四、小鼠精巢减数分裂标本的制备与观察	48
实验八 免疫荧光抗体法检测细胞表面抗原	52
实验九 流式细胞术的原理及应用	56
实验十 综合性实验	61
综合性实验一 细胞培养技术	61
一、细胞培养的的必要条件	62
二、细胞培养中常用器皿的清洗、消毒方法	63
三、细胞培养基(液)种类、配制及其灭菌方法	66
四、动物细胞的原代培养和传代培养	69
五、培养细胞的观察和显微摄影	73
综合性实验二 细胞融合实验技术	77
综合性实验三 细胞凋亡的检测技术	79
综合性实验四 干细胞培养技术及应用	88
综合性实验五 人外周血淋巴细胞培养及其染色体标本制备技术	93
实验十一 设计性实验	104
设计性实验一 诱导细胞凋亡因子的检测和鉴定	104
设计性实验二 肿瘤细胞染色体检测和畸变类型分析	106
附录	108
【附录一】离心速度和离心力换算列线图	108
【附录二】获得分散细胞与解聚不同组织的方法总结表(推荐)	109
【附录三】培养的细胞类型与使用的培养基(液)总结表(推荐)	110
【附录四】常见的诱导细胞凋亡因子	110
【附录五】人宫颈癌上皮细胞(HeLa)肿瘤细胞染色体标本制备方法	111
【附录六】英文缩写符号与中文名词对照表	112
主要参考文献	113

常用实验动物的了解和解剖器械的使用

常用实验动物

常用的实验动物有蟾蜍、小白鼠、大白鼠、豚鼠、猫、兔和狗等。在医学实验中,常常根据不同的实验目的而选用不同的实验动物进行实验研究。例如,蟾蜍可以用于观察离体心脏搏动情况的实验,小白鼠常用于样本量很大的实验(如药物的半数致死量的测定等),猫常用于脑内电位测定的实验,而狗是局部解剖手术中常用的实验动物。

在医学细胞生物学实验中,除应用培养细胞外,最常用的动物是蟾蜍、小白鼠和兔子,下面对其特点及基本处置做一简单的介绍。

1. 蟾蜍 蟾蜍是两栖类动物,由于其取材方便,常用于各种实验。其细胞较哺乳类动物的细胞大得多,因此常用于观察细胞形态的实验。

(1) 雌雄鉴别:通常雄性蟾蜍较雌性为小,且在其前肢的1~3趾基部有被称为“婚垫”的黑疣。

(2) 捉拿及处死方法:常用捣毁脊髓法处死蟾蜍,即用解剖针捣毁其脑组织和脊髓。具体方法是:左手握住蟾蜍的身体和四肢,使其腹部贴着掌心,示指压住蟾蜍头部前端使其尽量腹屈。在头与躯干之间可触及一凹陷(即枕骨大孔所在处),右手持解剖针垂直插入此凹陷约1~2mm,随即将针尖转向头侧插入颅腔捣毁脑组织。然后将针抽回并转向尾侧刺入脊椎管内捣毁其脊髓。如此直至其四肢松软,呼吸消失为止。

2. 小白鼠 小白鼠是哺乳类动物,是最常用的实验动物。

(1) 捉拿方法:将小白鼠放在鼠笼盖铁网上,用右手持其尾巴向后拉,小鼠则会尽力向前蹬。用左手的拇指和示指抓住其头顶部皮肤,然后用左手小指与手掌之间夹住尾巴。

(2) 处死方法:处死应以安乐死为原则,即使之无痛苦而迅速死亡。常用的方法有颈椎脱位、断头法和二氧化碳吸入法等。断头法需用特殊的断头器。二氧化碳吸入法是将小鼠放入盛有二氧化碳的容器内即可。颈椎脱位的具体方法是:右手拇指和示指按住小白鼠的头部,左手捉住其尾巴迅速向后猛拉,使其颈椎脱位而立即死亡。

(3) 给药方法:小白鼠的给药途径有经口给药、腹腔内注射和肌内注射等。我们常用的是腹腔内注射。具体方法是:左手捉住小鼠(如前所述),在其腹正中线稍外侧(避开膀胱和血管)用酒精消毒后,首先将针头向头部方向刺入皮下,进针1~2mm后,再以45°角刺穿腹部肌肉而进入腹腔(刺穿腹肌时有落空感)。针头刺入腹腔后切勿左右摆动,以免损伤肠管和肝脏。注意每次注入的液体量应为每10g体重0.1~0.2ml。

3. 兔子

(1) 雌雄鉴别:雄兔的泄殖孔在圆柱形的阴茎尖端,阴茎包在包皮中。两侧有阴囊,辜丸包在阴囊中。雌兔的泄殖孔在肛门腹方呈宽缝状,有皮肤皱褶,称阴唇。

(2) 捉拿方法:捉拿兔子不仅要提耳朵,并且连兔子颈部的皮毛也要一并捏住,这样可以防止兔子乱蹬,而弄伤双手。

(3) 处死方法:可以用水呛死;也可以用注射器往静脉注射空气造成气栓而死亡。

二、常用手术器械及操作方法

1. 解剖针 用于挑、刺等。常用来捣毁脊髓处死蟾蜍,持法如执笔法。

2. 解剖刀(即外科手术刀) 用于各种皮肤切口和组织切除等。持法有执弓法与执笔法两种(图 0-1A)。前者用于需较大力量切开较长距离的坚韧组织,如大动物的皮肤切口等;后者则用于小力量的短距离切开,或分离皮肤和肌肉等。

3. 大剪刀 用于剪毛、皮肤、皮下组织和肌肉等。持法见图 0-1B。

4. 眼科剪刀 用于剪断神经、血管和筋膜等细软组织。

5. 眼科镊子 用于提取神经、血管和筋膜等细软组织。

6. 钝头镊子 用于提取脏器、组织等。

7. 有钩镊子 用于提取皮肤切口等。

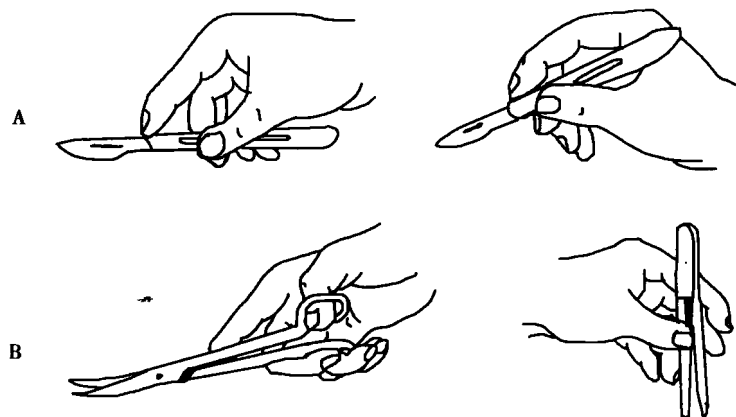


图 0-1 手术器械使用手法示意图
A. 执刀方法; B. 执剪刀和执镊子姿势

(朱金玲 刘英芹)

细胞生物学实验室管理规则

实验室是实验课教学的重要场所,为了使实验课能够在文明、安全、有序的条件下进行,师生们必须共同遵守以下实验室规则。

1. 精心爱护实验室内的一切公共财物,实验室内严禁吸烟,不准随地吐痰和乱抛杂物,不得大声喧哗,保持安静和整洁。

2. 学生应提前 5 分钟进入实验室,准备好当日实验所需的物品和用具。如需使用显微镜,必须先登记;用后要把每个镜头都擦拭干净,放入柜中。

3. 实验中打碎玻片标本、损坏仪器或仪器出现故障时,要及时举手报告教师,以便处理。

4. 实验中要注意安全,对强酸、强碱、有毒染料及加热火源要小心使用。千万不要将染料的滴管和滴瓶相互插错。注意节约使用水、电、药品和器材。实验室内电线和插头较多,谨防触电。

5. 当实验分组进行时,座位固定不变,以便于管理。若需调换座位,要报告教师。实验中各组使用自己的标本、药品和器材,避免各组间相互混用。

6. 实验室内的一切用具和物品,不得擅自带出实验室。因课外科技活动等需要使用时,要向教师办理借用手续。

7. 实验室内的精密仪器和贵重设备要妥为爱护,学生不得任意使用,防止使用不当,损坏仪器和设备。

8. 做完实验后,各人应将自己使用的用具擦净,妥为保管,并将实验台擦净。实验所产生的废物、污水、动物尸体等严禁随地抛弃,严格按环保部门的规定,妥善处置。

9. 每次实验结束时,由值日生负责打扫实验室内的卫生,关灯、关水、关窗和锁门。一般情况下,教师或实验员最后离开实验室。

(朱金玲)

细胞生物学实验报告书写和绘图要求

实验报告是对实验的总结,是表达实验研究成果的一种形式。书写实验报告是一项重要的基本技能训练,是学习实验论文书写的基础。通过书写实验报告,可以熟悉撰写科研论文的基本格式,学会绘图和制表的方法;可以学习如何应用有关理论知识和相关文献资料,对实验数据等进行整理和分析,得出实验结论;还可以培养学生独立思考、严谨求实的科学作风。

1. 实验报告书写的一般格式 实验报告应包含下列一些基本要点:实验目的、实验原理、实验材料和方法、结果和讨论、表格和图表(如果有的话)。

2. 实验报告书写的基本要求

(1) 实验材料和方法:应该清晰准确,包括实验操作的方法和先后顺序及相应的时间、操作注意事项等内容,此外还包括实验数据的测量和选取方法及注意事项。

(2) 实验结果:实验结果的书写主要包括文字描述、绘图及制表等形式。应该用精练的语言归纳出完整的内容,需要注意的是要使用科学术语。

(3) 实验结果分析与讨论:是根据已知的理论知识对本实验结果进行实事求是、符合逻辑的分析推理,从而推导出恰如其分的结论,最好能提出实验结果的理论意义和应用价值。如果实验出现非预期的结果,绝对不能舍弃或随意修改。要对“异常”的结果进行分析研究,找出出现“异常”结果的原因。有时,正是从某种“异常”的结果中发现新的有价值的东西,从而实现新理论的建立,或者实验技术的改进等。此外,还可就操作及实验结果中的难点和关键问题进行讨论。

(4) 绘图:绘图是细胞生物学实验报告中最重要形式,让学生将所观察到的形态结构用绘图的形式表述,具体要求如下:

1) 细胞生物学绘图要求使用铅笔,应准备 2H(或 3H)及 HB 铅笔,其他还包括直尺、小刀、橡皮和绘图纸等。

2) 生物绘图要求具有高度的科学性,作图前须将描绘的实物观察清楚。形态结构要准确,比例要正确,要有真实感、立体感,力求精细而美观;图面要整洁,绘图的线条要求光滑、匀称;图的位置应该略偏左,右边用于书写注释及说明;图注一般在图的右边,要完善,注图线一般为直线,间隔要均匀;图的注释应从各部分结构用直尺作出水平引线,各引线需平行不能交叉,引线右端平齐,结构名称写于引线末端。

3) 图的下方应注明图名,如绘制显微结构还应注明放大倍数。绘图不得潦草,更不能抄袭书上或他人的图。

4) 铅笔应经常保持尖锐,绘图时先用 HB 铅笔把标本轮廓及主要部分用光滑流畅的细线轻轻绘出,然后添加各部分详细结构,再加以修改,核实与描绘的标本准确无误后,再用尖

的硬铅笔(3H)以清晰的线条绘出全图,线条粗细要均匀,不得重复,不必要的笔画用橡皮擦去。

5) 图的明暗和立体感可用细圆点的疏密来表示,不能涂阴影。

(5) 制表:实验数据较多时,可用表格的形式给出处理结果。通过列表可以直观地对数据进行比较、统计,得出平均值或总和,以及评价各平行实验间的重复性。表格的设计要根据实验的内容和结果分配合理的行数、列数以及表头,同时表格的名称应位于表的上方,而对表格中数据的说明或注释的内容通常放在表格的下方。

(杨国华)

实验一

显微镜的结构和使用方法

【实验目的与要求】

1. 熟悉普通光学显微镜的主要构造、成像原理、操作方法,掌握低倍镜、高倍镜和油镜的使用方法。
2. 了解其他类型光学显微镜的成像原理和应用范畴。
3. 了解其他类型显微镜的工作原理、使用方法及应用范围。
4. 了解电子显微镜的工作原理及构造,初步了解电子显微镜样品的制备技术和方法。

【实验材料和用品】

(一) 材料

英文字母装片、毛发交叉装片、血涂片、动物细胞的超薄切片、各种细胞亚显微结构照片。

(二) 器材

载玻片、盖玻片、擦镜纸、吸水纸、普通光学显微镜、相差显微镜、暗视野显微镜、倒置显微镜、荧光显微镜、共聚焦显微镜、电子显微镜、超薄切片机、制刀机等。

(三) 试剂

香柏油(或石蜡油)、二甲苯等。

【实验内容】

普通光学显微镜的结构和使用方法

(一) 实验原理

光学显微镜简称光镜,是一种可以让标本产生放大图像的仪器,无论研究活的或固定的细胞结构还是其生物进程,光学显微镜都是一种不可替代的技术。目镜和物镜是显微镜放大系统的关键部件,其两者乘积就是显微镜的放大倍数。而放大标本的可见度主要取决于对比度和分辨率。对比度就是观察样本中的物体与背景间的光密度差异。一般生物本身是不存在有色物质的,在观察前必须固定和染色,除了有些着色的动物细胞和植物细胞,如含有叶绿素的叶绿体,不用着色就可以观察。此外,选择适合研究标准的显微镜也是非常重要的。如观察固定的和染色的标本一般选择明视野显微镜,即普通光学显微镜;如果需要增强活体标本的对比度,应选择相差显微镜、暗视野显微镜、倒置显微镜和荧光显微镜等。

光学显微镜是根据光学原理,采用一组玻璃透镜制作而成的。外部光线经反光镜反射入聚光镜,聚光镜将光线会聚在被观察的标本上,照亮标本,便于观察。当光线透射标本进入物镜后,物镜将标本作第一次放大,形成一个倒立的实像。光线再经过目镜进入人眼,目镜将第一次放大的实像作第二次放大,此时便在人的视野中得到一个放大的倒立虚像,成为显微镜的观察图像(图 1-1)。

任何一台显微镜的性能和质量高低主要由其分辨率决定,分辨率指的是区分两个质点间的最小距离,是光学显微镜最重要的性能参数。随着技术的发展,显微镜的分辨率也在不断提高。目前,普通光学显微镜的最大分辨率可达 $0.2\mu\text{m}$ 。

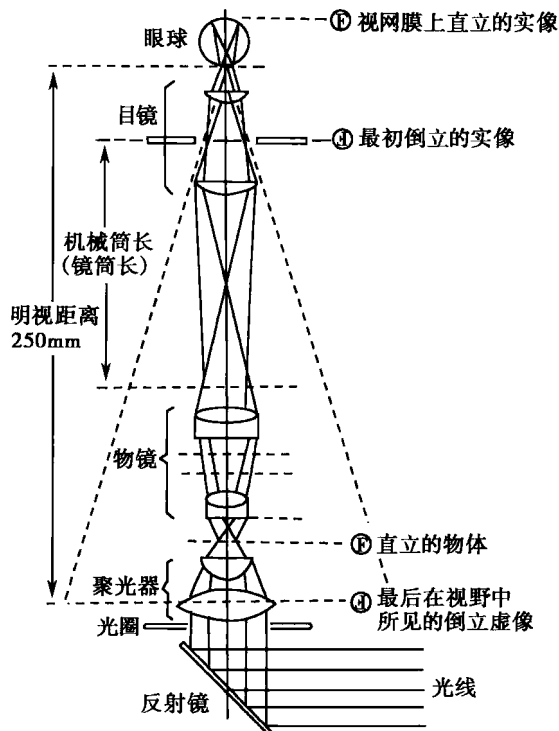


图 1-1 光学显微镜的成像原理模式图

（二）实验方法

1. 光学显微镜的基本构造与性能 不同型号或不同厂家制造的光学显微镜外形和结构可能有较大的差异,但其基本结构和工作原理相似(图 1-2)。普通光学显微镜在构造上主要包括机械系统和光学系统两部分(图 1-3)。

（1）机械系统

1) 镜筒:在光学显微镜的最上方是圆筒状结构,其上端为目镜的安装部位,其下端与物镜转换器相连。镜筒可有一个或两个,因此光学显微镜可分为单筒式和双筒式两类。

2) 物镜转换器:为一凸形圆盘状结构,位于镜筒下方,其上分布有 3~4 个镜孔,可安装不同放大倍数的物镜。

3) 镜臂:握拿显微镜的部位,其连接并支持镜筒。镜筒直立式光学显微镜在镜筒与其下方的镜柱间有一倾斜的关节,能使镜筒向后倾斜一定角度以便观察。

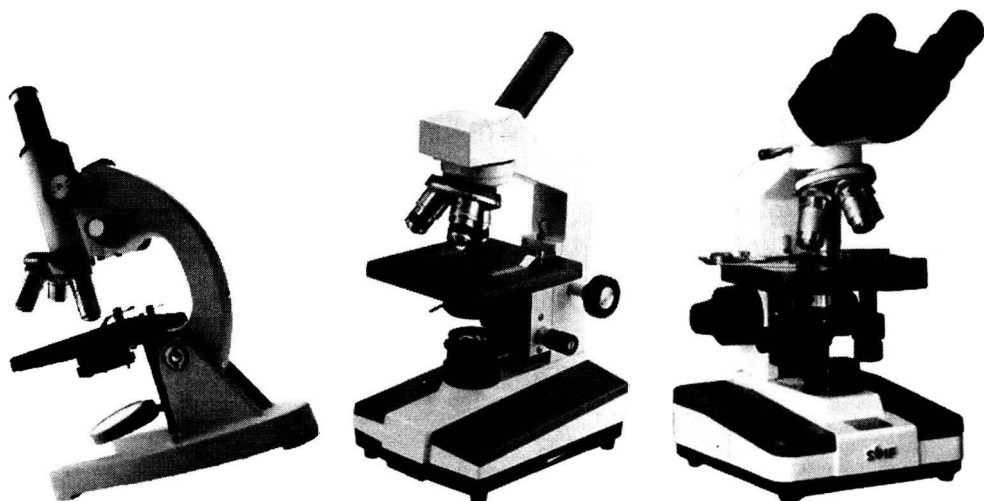


图 1-2 不同型号的光学显微镜示例

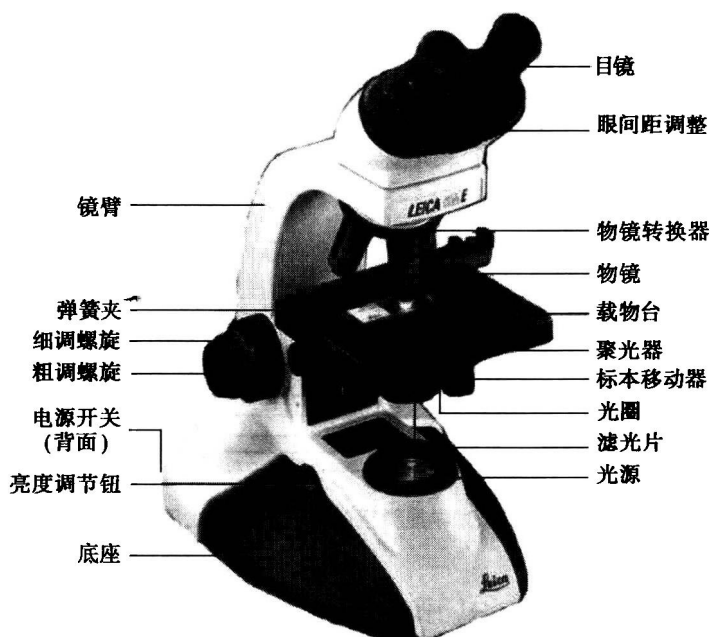


图 1-3 普通光学显微镜结构示意图

4) 镜柱:连接镜臂与镜座的垂直短柱。

5) 调焦螺旋:也称升降调节器、调焦器,为调节焦距的装置,在镜柱的两侧各有一对大小不等的重合螺旋,分为粗调螺旋和细调螺旋。粗调螺旋可使载物台(或直立式镜筒)较快速度地升降,一般在低倍镜观察标本时使用;细调螺旋只能使载物台缓慢移动,适用于高倍镜和油镜下观察及低倍镜的精细调焦,使视野中标本更为清晰,也常用于对标本不同层次的观察。

在左或右粗调螺旋的内侧靠近镜柱处有一窄环,称为粗调螺旋松紧调节轮,转动该轮,

可调节粗调螺旋的松紧度。另外,在粗调螺旋的内侧还有一短柄,将该柄向前推紧,可使粗调螺旋限位,载物台不能再上升,但细调螺旋仍可调节。

6) 载物台:也称平台,是位于物镜下方且与镜柱垂直相连的方形台,为被观察玻片标本的放置处。其中央有一透光孔,光线经此孔照亮标本。

7) 标本移动器:也称移片器,连接在载物台上方,可移动玻片标本,其上的弹簧夹可固定玻片标本。

移片器上有纵横游标尺,可以确定标本在视野中的位置以及标本移动的距离。游标尺由主标尺和副标尺组成。副标尺的分度为主标尺的 $9/10$ 。

8) 镜座:为显微镜的底座,可以支撑和稳定显微镜的整体结构。有的显微镜在镜座内装有照明设备等装置。

(2) 光学系统

1) 目镜:套在镜筒的上端,常见的有 $5\times$ 、 $10\times$ 或 $15\times$ 的目镜,数字表明目镜放大的倍数为5倍、10倍或15倍。目镜通常由两片(组)透镜组成,一般在上下透镜之间的镜筒上粘有一小段细铜丝或头发作为指标,用以指明视野中被观察标本的位置。目镜放大倍数过大,反而会影响观察效果。

2) 物镜:是决定显微镜成像质量和分辨能力的重要部件,其安装在物镜转换器上。根据物镜放大倍数的不同可分为低倍镜、高倍镜和油镜三种。每个物镜上都刻有相应的主要性能参数,如: $10/0.25$ 、 $160/0.17$,表示该物镜的放大倍数为10,数值孔径为0.25,160为160mm的镜筒长度,0.17为所需盖玻片的厚度为0.17mm。油镜刻有 $90\times$ 或 $100\times$ 字样,另外,还常标有“油”或“oil”字样。从外形上观察不同放大倍数的物镜,可见油镜最长,高倍镜次之,低倍镜最短。

3) 聚光器:位于载物台透光孔下方,由聚光镜和光圈组成,可使光线集中到所要观察的标本上,增加视野亮度。在聚光器的左方有一调节螺旋可使其上升或下降,上升聚光器可使光线增强,反之则光线减弱。

聚光镜由一组透镜组成,具有会聚光线的作用,把光线会聚放大,射向被观察的标本,进入物镜。

光圈也称虹彩光阑或孔径光阑,位于聚光镜的下方,由一组金属薄片组合而成,外侧有一小柄,可使光圈的孔径变大或缩小,以改变外来光束的直径,调节进光量。光圈开大则光线较强,适合于观察颜色深的物体;光圈缩小则光线较弱,适合于观察透明或无色的物体。光圈的下方常装有一滤光片圆环,可放置各种颜色的滤光片。

4) 反光镜:位于聚光器下方的一个圆形镜面,一面为平面镜,另一面为凹面镜,可以向不同的方向转动,将光线反射入聚光器。凹面镜有反光和聚光的作用,适合于光线较弱或油镜下观察标本时使用,平面镜则一般在光线较强或靠近光源时,或在低倍镜及高倍镜观察标本时使用。

2. 光学显微镜的使用方法 使用显微镜时,首先用右手握住镜臂轻轻从镜箱取出显微镜,左手托住镜座,缓慢地放在实验台的中偏左侧,以镜座后端离实验台边缘 $3\sim 5\text{cm}$ 为宜。

(1) 低倍镜的使用

1) 调光:转动粗调螺旋,使载物台下降。再转动物镜转换器使低倍镜对准透光孔,当听到轻微扣碰声时,表示镜头到位,目镜与物镜的光轴一致。将光圈完全打开,升高聚光器

与载物台同高(或略低),双眼同时(既防止眼睛疲劳又便于绘图),用左眼向目镜内观察,同时转动反光镜,使全视野内为均匀的明亮度。调光时应注意避免直射光源,以免损坏镜头,并损伤眼睛。

2) 放置玻片标本:将玻片置载物台上(有盖玻片或标签的一面朝上),用标本移动器上的弹簧夹夹住标本玻片并固定好。然后转动标本移动器的螺旋,使所观察的标本部位移向透光孔中央。

3) 调焦:侧面观察,用粗调螺旋上升载物台,至镜头距玻片约0.5cm处,然后用左眼向目镜内观察,同时慢慢转动粗调螺旋使载物台下降,直至视野中出现物像,再用细调螺旋调至物像清晰为止。然后移动玻片,观察标本的各部位。如果第一次失败,必须严格按上述步骤从头开始。

双目显微镜调焦步骤:①根据观察者的双眼间距调节目镜筒间距:用两只手抓住观察镜面板,调节目镜筒间距,直到通过两目镜筒同时看到完整的视场。眼间距不对,操作时容易感到疲劳,并影响物镜对焦。②调到适当位置时,注意读出双目间距刻度值,将右目镜筒刻度圈旋到与双目间距相同的数值,闭上左眼或用不透明物遮盖左眼,用微调手轮仔细调焦显微镜,直到标本对右眼清晰成像,说明右目镜调好。③再闭上右眼,不需调焦,旋转左目镜筒刻度圈,直到标本对左眼清晰成像。④如果双目镜筒间距和刻度圈已调节适合,将得到最佳的效果。调到最佳效果时:a. 无论看到任何标本,用微调手轮调焦,左右眼都能看到同样清晰的成像;b. 观察者头部在确定位置通过两目镜可舒适地看到整个视场;c. 将转换器上的物镜换到另一个物镜时,只要稍微调手轮,即可获得清晰图像。如果未得到上述结果,应重新调节。⑤为了避免每次使用显微镜都要重复这些调节,应记住各人已调好的各自的刻度值。

(2) 高倍镜的使用:先在低倍镜下找到需观察的物像,将其移至视野中央,同时调节焦距,使物像清晰。

从侧面观察注意物镜,转动物镜转换器,使高倍镜对准透光孔,调节光圈或聚光器使光亮度适宜。再轻微调节细调螺旋便可使物像清晰。一般高倍镜下不再使用粗调螺旋,以防止镜头触及玻片标本而损坏镜头。如需观察新标本,应先转开物镜,下降载物台,取出标本,再放置新玻片,然后重复上述步骤。

(3) 油镜的使用:在高倍镜下找到需观察的标本,将其移至视野中央。

转开高倍镜,在玻片透光孔中央位置处滴一滴香柏油或石蜡油,然后转动物镜转换器使油镜转至工作状态,此时,油镜镜面与油滴接触或浸在油滴中。也可先下降载物台,将油镜对准透光孔,然后侧面观察,用粗调螺旋缓慢上升载物台,使油镜下端浸入油滴。特别注意不能使油镜压在标本上,更不能用力过猛。

目镜观察,缓慢转动细调螺旋使载物台下降直至视野中物像清晰为止。必要时可开大光圈或升高聚光器以增加镜内的视野亮度。

使用完油镜,应立即降低载物台,把油镜转向一侧,用干的擦镜纸把镜头上的油擦一次,再用擦镜纸蘸少许二甲苯擦去镜头上残留的油迹,最后再用干的擦镜纸擦干净。

显微镜使用完毕后,取下玻片,将各部分还原,反光镜垂直镜座,物镜转离透光孔,降低聚光镜,罩上布罩放回镜箱。

3. 低倍镜、高倍镜和油镜的使用练习

(1) 字母装片的观察:先用眼睛观察装片字母的位置,将有字母的位置对准透光孔,按