《医学基础实验教程》编写说明

随着医学教育改革的深入，医学人才培养模式明显转变，实验教学开始摆脱了附属于理论教学的地位，逐步形成自身的教学体系，过去按单科设置的实验课程和千篇一律的验证性实验，已不完全适应现代医学教育发展和创新医学人才的培养。实验教学不仅要与理论教学和临床教学紧密结合，而且要有独自的教学平台和教学体系，重在培养学生的实践能力、专业能力、科研思维和创新能力。

实验教学示范中心建设是当前深化实验教学改革的重要途径，实验教材建设则是保证这项改革顺利实施的基本条件。我院在进行示范中心建设过程中，对基础医学的实验设施、实验条件和实验手段进行资源优化配置，建立了医学基础实验教学中心，下设六个实验教学平台。并对基础医学实验教学内容，按照现代医学人才培养要求和构建医学基础实验教学体系的思路进行重组，把医学专业基础阶段的实验教学内容分为基本性实验、综合性实验和研究性实验三类。基本性实验主要开设与理论教学密切相关的经典实验，着重培养学生的基本理论、基本知识、基本技能和专业能力；综合性实验主要为融合相关学科知识而开设的实验，重在培养学生的思维方法和综合运用所学知识分析问题、解决问题的能力；研究性实验是由带教老师或学生提出问题，学生查阅文献提出初步实验方案，在教师指导下充分讨论确定最终实验方案、进行实验操作，记录分析实验结果，写出实验报告或研究报告，主要培养学生的严谨作风、科研思维和创新能力。

在进行上述改革的基础上，学院组织教学一线的专家教授编写了这套《医学基础实验教程》作为医学类专业本科生、研究生的实验教学用书。全书分为六个分册，即《医学化学实验分册》、《人体解剖学实验分册》、《病原生物学与免疫学实验分册》、《生物化学与分子生物学实验分册》、《医学形态学实验分册》和《医学机能学实验分册》。包括了实验基本要求，基本知识、基本技术操作和三类实验内容。在实验内容编排上采用基本-综合-研究的顺序，由浅入深、循序渐进，结构新颖，内容丰富，适用面广，是推进实验教学改革和实验教学示范中心建设的一部配套教材。为了扩大本书的涵盖面，书中编写的实验内容突破了现阶段医学院校本科医学专业开设的实验教学内容，各校可根据自己的教学实际选用本教程。

由于实验教学改革是一项不断深入发展的长期任务，目前尚处于探索阶段，没有现成模式可循，因此，编写这样的实验教学改革教材仅仅是一种尝试，并且各层次学校、各学科间差异较大，加之笔者水平有限，不足之处在所难免，敬请同行专家批评指正。

李著华

2008 年 5 月 5 日

需要全本请访问 www.ertongbook.com

《医学基础实验教程》编写人员

总 主 编　　李著华
副总主编　　张春来
主　　审　　曾晓荣

医学化学实验分册

主　编　　王　钦
副主编　　杜　军　杜　曦

人体解剖学实验分册

主　编　　萧洪文
副主编　　余崇林　王继丰

生物化学与分子生物学实验分册

主　编　　李　洪
副主编　　杨　烨　刘友平

医学形态学实验分册

主　编　　龙汉安　税青林
副主编　　郭　勇　唐学清

病原生物学与免疫学实验分册

主　编　　张育华
副主编　　王光西　邬于川

医学机能学实验分册

主　编　　冯志强　肖顺汉
副主编　　秦大莲　赵春玲　邹　平　冉　兵

前　言

传统基础医学中细胞生物学、医学遗传学、组织胚胎学和病理学等基本上都是以学科为单位分别进行实验教学，内容大多数为知识点相对孤立的验证性实验，且各学科间存在一定的重复，这不利于学生创新能力的培养。为了适应21世纪医学人才培养的需要，更新教育观念，改革教学内容和方法，加强学生素质教育和实践能力、创新能力的培养，在共享人力、财力、物力资源这一理念的指导下，我们以整合建立形态学实验室为依托，将上述四门课程的教学实验整合为一门形态学实验课程。为了顺利实施这一课程改革，我们特编写了这本《医学形态学实验分册》。

《医学形态学实验分册》内容涉及细胞生物学、医学遗传学、组织胚胎学和病理学。借助于显微技术、亚显微技术和分子技术，细胞生物学主要研究生命的基本构成单位——细胞的结构与功能；医学遗传学的核心问题是探讨细胞内遗传物质的作用及变化规律；组织胚胎学研究正常组织结构和胚胎发育；病理学则是研究病理状态下的细胞和组织形态学改变。四门课程实验教学方法和手段具有很多共性，本书打破学科界限，将医学形态学实验编排成四章，第一章绪论主要介绍形态学实验的特点、目的要求和基本方法；第二章为基本性实验；第三章为综合运用相关理论和技术的综合性实验；第四章为开拓学生思维和能力的研究性实验。本书可用于高等医药学校临床医学、预防医学、药学、医学影像学、口腔医学、护理学等医学类各专业本科实验教学，各专业可根据教学目标和学时要求的不同，酌情选择实验项目。

负责编写本教材的人员均为长期工作在教学第一线的专家教授，编写过程中，全体编委表现出高度的职业精神和负责态度，精心组织内容，力求文字和图表准确、实验程序清晰明了，书中图片大多数为教师自己摄制的教学标本和切片。为此，对各位编委的辛勤劳动表示衷心感谢。

由于编写此类教材属于改革性尝试，缺乏相应的参照和经验，本书难免存在不当和疏漏，希望使用本教材的师生能够不吝指正，以便修正。

龙汉安　税青林

2008年4月

目　录

第一章　绪论 …… 1
第一节　形态实验学的特点、目的和要求 …… 1
第二节　形态学实验常用方法和技术 …… 1
第三节　形态学实验课的实习方法 …… 3

第二章　基本性实验 …… 5
实验一　普通光学显微镜的结构及其使用 …… 5
实验二　电子显微镜的结构及其使用 …… 11
实验三　动物细胞的显微测量 …… 14
实验四　细胞形态结构与细胞器的观察 …… 15
实验五　细胞的超微结构 …… 20
实验六　细胞骨架的显示与观察 …… 27
实验七　细胞化学 …… 29
实验八　巨噬细胞吞噬试验 …… 33
实验九　细胞分裂 …… 35
实验十　细胞融合 …… 42
实验十一　实验动物染色体标本的制备与观察 …… 44
实验十二　动物细胞的原代培养和传代培养 …… 47
实验十三　培养细胞的冻存与复苏 …… 52
实验十四　细胞活力测定 …… 54
实验十五　细胞计数 …… 55
实验十六　人类外周血淋巴细胞的培养及染色体标本制备 …… 56
实验十七　人类非显带核型分析 …… 59
实验十八　人类染色体 G 显带技术及 G 带核型分析 …… 62
实验十九　人类染色体 SCE 标本的制备和观察 …… 68
实验二十　遗传病的系谱分析 …… 70
实验二十一　苯丙酮尿症的筛查 …… 73
实验二十二　上皮组织 …… 76
实验二十三　结缔组织 …… 79
实验二十四　血液 …… 81
实验二十五　软骨和骨 …… 84

实验二十六　肌组织 …… 87
实验二十七　神经组织 …… 89
实验二十八　眼和耳 …… 93
实验二十九　循环系统 …… 96
实验三十　皮肤 …… 99
实验三十一　免疫系统 …… 102
实验三十二　内分泌系统 …… 105
实验三十三　消化管 …… 108
实验三十四　消化腺 …… 112
实验三十五　呼吸系统 …… 116
实验三十六　泌尿系统 …… 119
实验三十七　男性生殖系统 …… 121
实验三十八　女性生殖系统 …… 124
实验三十九　人胚早期发生 …… 127
实验四十　胎膜、胎盘、孪生和联体 …… 130
实验四十一　颜面、消化系统和呼吸系统的发生 …… 132
实验四十二　泌尿系统和生殖系统的发生 …… 135
实验四十三　循环系统的发生 …… 136
实验四十四　细胞和组织适应与损伤 …… 139
实验四十五　损伤与修复 …… 143
实验四十六　局部血液循环障碍 …… 144
实验四十七　炎症 …… 146
实验四十八　肿瘤 …… 150
实验四十九　心血管系统疾病 …… 156
实验五十　呼吸系统疾病 …… 158
实验五十一　消化系统疾病 …… 163
实验五十二　造血和淋巴系统疾病 …… 167
实验五十三　泌尿系统疾病 …… 169
实验五十四　生殖系统疾病 …… 172
实验五十五　传染病 …… 175

第三章　综合性实验 …… 179
实验一　培养细胞的凋亡检测 …… 179
实验二　绒毛细胞染色体标本的制作 …… 183
实验三　羊水细胞培养及染色体标本的制备 …… 186
实验四　性染色质标本的制备与分析 …… 188

需要全本请访问 www.ertongbook.com

实验五　遗传咨询…… 192
实验六　组织胺复制急性胃溃疡和诱导血液嗜酸性粒细胞形态学观察实验…… 194
实验七　兔空气栓塞…… 195
实验八　局部血循环障碍病案讨论…… 196
实验九　循环系统病案讨论(一)…… 197
实验十　循环系统病案讨论(二)…… 197
实验十一　呼吸系统病案讨论…… 198
实验十二　消化系统病案讨论(一)…… 199
实验十三　消化系统病案讨论(二)…… 200

第四章　研究性实验…… 202
实验一　遗传病的产前诊断…… 202
实验二　呼吸上皮细胞纤毛运动实验观察…… 203
实验三　腹腔间皮形态学实验观察…… 204
实验四　精子细胞顶体、精子顶体的显示 …… 204
实验五　肿瘤转移途径干预设计…… 206
实验六　对肝脏细胞形态学影响的实验研究…… 206
实验七　四氯化碳对小鼠肝脏形态学影响的实验研究…… 207

第一章

绪　论

医学院校的形态学一般包括人体解剖学、组织学与胚胎学、病理解剖学、细胞生物学和医学遗传学等。形态实验学就是把教学方法和教学手段相似的相关专业内容融合、以形态观察为主要手段的实验教学模式。

第一节　形态实验学的特点、目的和要求

形态实验学以学科融合、资源共享、创新为特点。基本性实验主要是学生必须掌握的经典的基本实验项目，以巩固和提高基本理论知识、基本技能和基本方法。综合性实验是综合运用相关理论和技术的过程，其目的是提高学生综合分析问题和解决问题的能力。研究性实验是引导学生自己设计、自己动手操作的相关实验项目，其目的是以学生为主体、教师为导向，激发学生创新能力，培养学生严密的科学思维和实事求是的科学态度。

通过形态实验教学，要求学生达到以下目的：

1. 掌握形态学相关基本理论知识、基本技能和基本方法。

2. 学会观察、分析和动手解决问题的能力。在实验过程中，学会观察事物之间的差异以及分析它们之间的内在联系，提高学生综合分析问题和解决问题的能力。

3. 培养创造性思维。在设计实验课题时，应提出多个设想，对已掌握的知识进行归纳、分析、判断，形成实验假说，设计科学合理的方案。

第二节　形态学实验常用方法和技术

一、大体观察

主要运用肉眼或辅以放大镜、量尺和磅秤等工具，对大体标本及其病变性状（外形、大小、重量、色泽、质地、表面及切面形态、病变特征等）进行细致的观察和检测。有的疾病通过大体观察即可识别；有的虽不能确定诊断但能识别出病变所在，可取材作进一步组织学观察。

二、组织和细胞学观察

将正常或病变组织制成切片，或将脱落细胞制成涂片，经不同方法染色后用显微镜观察，从而千百倍地提高了肉眼观察的分辨力，加深了对结构或病变的认识，通过分析和综合结构特点，可作出正确的诊断。组织切片最常用苏木精-伊红（hematoxylin-eosin）染色（HE染色）。迄今，此方法仍然是研究和诊断疾病最常用的基本方法。如仍不能诊断或需进行更深一步的研究，则可辅以一些特殊染色和新技术。

三、超微结构观察

由于电子显微镜（电镜）较光学显微镜的分辨力高千倍以上，故可用电镜观察亚细胞结构（如细胞器、细胞骨架等）或大分子水平的变化来了解组织和细胞最细微的结构，即超微结构，并可与机能和代谢变化联系起来。在肿瘤和肾脏疾病研究中，电镜在确定肿瘤细胞的组织发生、类型和分化程度上起着重要作用。

四、组织化学和细胞化学观察

一般称为特殊染色，此方法的目的是通过应用某些能与组织细胞化学成分特异性结合的显色试剂，显示组织细胞的化学成分（如蛋白质、酶类、核酸、糖类、脂类等）的改变，从而加深对形态结构改变的认识和代谢改变的了解，特别对一些代谢性疾病的诊断有一定的参考价值。例如过碘酸 Schiff 反应（PAS反应）可用来区别骨内 Ewing 肉瘤和恶性淋巴瘤，前者含有糖原而呈阳性，而后者不含糖原呈阴性；又如磷钨酸苏木素染色（PTAH）在横纹肌肉瘤中可显示瘤细胞胞浆内有横纹等等。

五、免疫组织化学观察

免疫组织化学（immunohistochemistry）广泛应用于形态学研究。其原理是利用抗原与抗体的特异性结合来检测组织中未知抗原或抗体，借以判断组织来源或分化方向。如常用的5种细胞骨架中间丝蛋白，即角蛋白（keratin）、波形蛋白（vimentin）、结蛋白（desmin）、神经细丝蛋白（neurofilament protein，NFP）和胶质细丝酸性蛋白（glial fibrillary acidic protein，GFAP），一般可用来协助诊断相应的上皮细胞、间叶组织、横纹肌和平滑肌、神经细胞和胶质细胞来源的肿瘤。

六、组织培养和细胞培养

将某种组织或单细胞用适宜的培养基在体外培养，可以研究在各种因素作用下细胞、组织变化。例如在病毒感染和其他致癌因素的作用下，细胞如何发生恶性转化；在恶性转化的基础上发生哪些分子生物学和细胞遗传学改变；在不同因素作用的影响下能否阻断恶性转化的发生或引起恶性转化的逆转；免疫因子、射线和抗癌药物等对癌细胞生长的影响等。

七、动 物 实 验

运用动物实验的方法，可以在适宜动物身上复制出某些人类疾病的模型，并通过疾

病复制过程可以研究疾病的病因学、发病学、病理改变及疾病的转归。同时可根据研究的需要，对之进行任何方式的观察研究。例如可在疾病的不同时期作活检，以了解疾病不同阶段的病理变化及其发生发展过程，药物或其他因素对疾病的疗效或影响，并可与人体疾病进行对照研究。此外，还可进行一些不能在人体上进行的研究，如致癌剂的致癌作用和癌变过程的研究及某些生物因子的致病作用等。

八、图像分析技术

图像分析技术（image analysis）可为形态学观察提供较为精确、更为客观的定量标准和方法。形态定量技术已从二维空间向三维空间发展。例如肿瘤病理方面图像分析主要应用于核形态参数的测定，如核直径、周长、面积、体积、形态因子等的测定，用以区别肿瘤的良恶性、区别癌前病变和癌、明确肿瘤的组织病理分级和判断预后等。

九、分子生物学技术

近年来，重组 DNA、核酸分子杂交、原位杂交（in situ hybridization，ISH）、聚合酶链反应（PCR）、DNA 测序等分子生物学技术的发展，对形态学的发展起到了极大的推动作用。这些技术不但已广泛应用于研究细胞正常生命活动过程，而且对疾病的病因学、发病学、诊断和治疗等方面的研究提高到了基因分子水平。

十、人体病理学常用方法

在人体病理学的研究中常用到尸体剖验（简称尸检，autopsy）、活体组织检查（简称活检，biopsy）、细胞学（cytology）检查等技术和方法。

第三节　形态学实验课的实习方法

1. 实验课前应复习相关理论，预习实验指导和教学大纲，对实验的要求和内容有所了解。

2. 在实验中，应理论与实践相结合，文字与图像相结合，在辅以录像、挂图及多媒体影像的基础上，通过形态结构观察，达到掌握及熟悉所学知识的目的。学习中注意培养自己发现问题、分析问题和解决问题的能力。

3. 观察切片时，应先肉眼，再低倍后高倍，必要时才使用油镜。首先用肉眼观察标本的大致轮廓、形态和染色情况；再用放大镜、低倍镜观察，应重视低倍镜下的观察，它可以了解组织切片的全貌、层次和位置关系；而高倍镜下的观察只是局部的放大。要培养自己正确的观察习惯，即从整体到局部，从一般结构到特殊、微细的结构。要注意切面与立体的关系、相邻各部分之间的关系，并联系机能理解结构。先了解标本的一般结构共性，再抓个别的特征，对类似的组织器官要比较区别。要求绘图或描述的内容必须在全面仔细观察和理解的基础上，选择标本中比较典型的部位，按照实物的形态结构和染色情况进行绘图和描述。实验报告必须真实、准确，并注意整洁。

4. 每次实验课后，应按照教学大纲的要求，结合标本对理论知识进行复习、整理、综合、巩固，加深理解和记忆。

附：形态学实验绘图的要求和方法

形态学实验绘图和记录光镜下所观察到的标本形态是形态学实验报告的一种重要形式，其基本要求和方法如下：

1. 每个学生必须在课前准备好黑色 2B、HB 铅笔和红、蓝铅笔各一支，橡皮擦、直尺、削笔刀、绘图纸等。

2. 绘图前应认真观察标本，绘图必须真实准确，整洁明了，各部分比例应与标本一致。

3. 图的各部分都要以点或线来表示。用线条表示图的范围，点的疏密表示明暗或浓淡，线条的粗细要均匀，点要圆润。

4. 图的大小、位置应适宜。图的位置一般偏于纸的左侧，右侧作引线及注释，一般较大的图每页绘制一个，同一类的小图可每页绘制数个，但应分布恰当，预留注释的位置。

5. 绘图时先用 HB 铅笔把标本轮廓及主要部分轻轻画出，再根据草图添加各部分详细结构，最后用 2B 铅笔或红、蓝铅笔以清晰的线条绘出全图，不必要的笔画用橡皮擦擦去。

6. 绘图纸上所有的字必须用铅笔以楷书写出，字迹不可潦草，注字排列整齐，注释引线应水平伸出，各引线不能交叉，图的名称应标在该图的下面，还应标明染色方法和放大倍数。

（龙汉安　税青林）

第二章

基本性实验

实验一　普通光学显微镜的结构及其使用

【实验目的】

1. 掌握普通光学显微镜的正确使用方法。

2. 熟悉普通光学显微镜的主要结构及其性能。

3. 了解光学显微镜的维护方法。

【实验材料】

1. 标本　各种材料固定装片或临时装片。

2. 器材　显微镜、“显微镜的结构和使用”录像片、拭镜纸、载玻片、盖玻片等。

3. 试剂　二甲苯、香柏油。

【内容与方法】

光学显微镜（light microscope）简称显微镜或光镜，是进行细胞形态结构观察和研究的重要工具，广泛应用于生物医学研究及临床工作中。熟悉显微镜的结构和功能，掌握其使用方法是医科学生必须具备的基本技能。

显微镜的种类繁多，虽然在外形和结构上差异较大，但基本的构造和工作原理是相似的。目前使用最为广泛的是普通光学显微镜，此外还有暗视野显微镜、荧光显微镜、倒置相差显微镜和激光共聚焦扫描显微镜等。

一、光学显微镜的主要构造

一般光学显微镜的构造主要分为三部分（图 2-1-1）：机械部分、照明部分和光学部分。

（一）机械部分

1. 镜座（base）　是整个显微镜的基座，通常呈马蹄形或长方形，它的作用是支持和稳定镜体。有的显微镜在镜座内装有照明光源等构造。

2. 镜柱（post）　是镜座上方的直立短柱，用以连接和支持镜臂。

3. 镜臂（arm）　是镜柱上方的弯曲部分，为取用显微镜时的手握部位。

4. 载物台（stage）　位于镜臂前方的方形或圆形平台，用以放置玻片标本。平台中央有一圆形的通光孔，来自下方的光线经此孔照射到标本上。

需要全本请访问 www.ertongbook.com

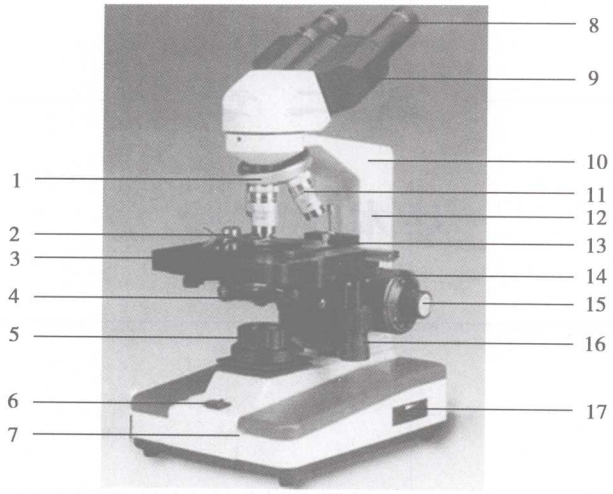

图 2-1-1　普通光学显微镜

1. 物镜转换器　2. 片夹　3. 载物台　4. 集光器　5. 电光源　6. 电源开关　7. 镜座　8. 目镜　9. 镜筒　10. 镜臂　11. 物镜　12. 镜柱　13. 移片器　14. 粗调螺旋　15. 细调螺旋　16. 移片器螺旋　17. 电光源亮度调节钮

载物台上通常装有标本移动器（也称移片器），移片器上安装的弹簧夹可用于固定玻片标本，转动移片器的两个螺旋能向前后左右移动玻片标本，方便寻找目标。移片器上一般附有纵横游标尺，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。使用时先看副标尺的 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，图中所示的数值为 46.4mm（图 2-1-2）。

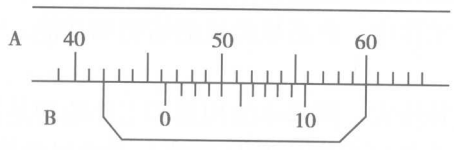

图 2-1-2　游标尺的用法

5. 镜筒（tube）　连于镜臂前方的金属圆筒，一般长为 160mm。上端装有目镜，下端连接物镜转换器。根据镜筒的数目，光镜可分为单筒式和双筒式两类。

6. 物镜转换器（revolving nose-piece）　又称旋转盘，接在镜筒下端可以自由旋转的凹形圆盘，在凸面有 3～4 个圆孔，物镜即装在这些圆孔里，转动旋转盘可调换不同放大倍率的物镜。转动旋转盘，使盘内的“T”形卡与物镜孔的边缘缺刻相吻合，即可使物镜和光轴同轴心。

7. 调焦螺旋（focusing adjustment）　是装在镜臂或镜柱上的大小两种螺旋，转动时可使载物台上下移动，以调节物镜和标本间的距离。粗调螺旋（大螺旋）转动时上下移动范围较大，适于低倍镜的对焦；细调螺旋（小螺旋）转动时升降幅度小，适于高倍镜和油镜的对焦，也常用于观察标本的不同层次，一般在粗调螺旋调焦的基础上使用。

（二）照明部分

在载物台下方装有一套照明装置，由电光源、集光器和光圈三者组成。

1. 电光源（electric light sources）　在电光源显微镜中，光线可通过镜座内装有的

反射镜或反射棱镜反射到集光器中，光线强弱可通过光源调节器进行调节。

2. 集光器（condenser） 位于载物台下方的支架上，由一组透镜（两个或三个）组成，其作用相当于一个凸透镜，将电光源的光线集中射向标本片，以增加亮度。旁边的小螺旋用来升降集光器，上升集光器时，光线增强，下降集光器时，光线减弱。

3. 光圈（diaphragm） 位于集光器下方，由十几张金属薄片组成。拨动外侧的光阑小柄可使光圈孔径扩大或缩小，以调节通光量。有些显微镜的光圈下还装有滤光玻片支架框，可放置不同颜色的滤光片。

（三）光学部分

它是显微镜的最重要部分，主要由目镜和物镜构成。

1. 目镜（ocular） 装在镜筒的上端，通常备有 2～3 个，上面刻有 5×、10×、15×等符号以示其放大倍数，可选择使用，一般常用的目镜倍数为 10×。目镜筒内有一段头发或细钢丝作为指针，用以指明所观察目的物的位置。

2. 物镜（objective） 装在物镜转换器上，一般有 3～4 个。物镜是由数片凸透镜和凹透镜严格组合起来的一组镜片，它是显微镜分辨性能高低的关键部件。根据放大倍数不同，习惯上把 10 倍以下的叫低倍镜，40 倍的称高倍镜，90 或 100 倍的称油镜。为便于区分，在不同放大倍数的物镜上常用一圈不同颜色的线作为特殊标志。

通常在物镜上标有主要性能指标——放大倍数、数值孔径、机械筒长和所要求的盖玻片厚度。如 40 倍的物镜上刻有 40/0.65 和 160/0.17。40 表示放大倍数，0.65 表示数值孔径，160 表示机械筒长，0.17 表示盖玻片厚度（图 2-1-3）。另外，在油镜上还常标有“油”或“oil”字样。

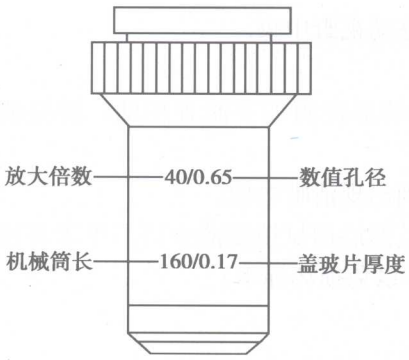

图 2-1-3 物镜的性能参数

数值孔径（numerical aperture，NA）也称镜口率，是直接决定显微镜分辨率的一个重要参数，数字越大，表示分辨力越高。

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（物镜调节清晰）时，物镜最下面透镜的表面与盖玻片上表面之间的距离。物镜放大倍数越大，工作距离越小。10×、40×、100×物镜的工作距离分别为 7.63mm、0.50mm、0.193mm。当低倍镜被调节到工作距离后，可直接转换高倍镜或油镜，只需用细调螺旋稍加调节焦距，便可见到清晰的物像（同高调焦）。不同放大倍数的物镜也可以从外形上加以区别，一般来说，低倍镜最短，油镜最长。

显微镜的总放大倍数为物镜和目镜的放大倍数的乘积。如物镜 40×，目镜 10×，则放大倍数为 400。

二、显微镜的使用方法

（一）低倍镜的使用方法

1. 准备 打开显微镜箱，右手握镜臂，左手托镜座，取出显微镜。使用前先检查一下它的各个部件是否完整、正常，并进行必要的清洁工作，然后将显微镜轻放在自己

座位面前实验桌上稍偏左侧，离桌边缘 3～6cm 为宜。

2. 对光　用左手转动粗调螺旋使载物台下降，用右手拇指和食指转动物镜转换器，使低倍镜对准通光孔（转动时应注意使物镜上方的缺刻与基座的固定扣相扣合，可听到轻微的扣碰声）。打开光圈，旋转集光器升降螺旋，使集光器上端透镜平面略低于载物台平面的高度，两眼同时睁开，从目镜中观察，打开电光源并调整光源调节器，使视野内光线均匀明亮。

3. 放置玻片标本　将标本片有标本的一面向上置于载物台上用标本移动器的弹簧夹固定好，然后用右手转动标本移动器螺旋，使标本对准通光孔中央。

4. 调节焦距　左手转动粗调螺旋，使低倍镜距玻片标本约 0.5cm（调节时必须从侧面注视物镜与玻片距离，切勿用眼在目镜上观察的同时转动粗调螺旋），然后两眼同时睁开在目镜上观察，左手慢慢调节粗调螺旋，使载物台下降直到视野中出现物像时，再调节细调螺旋，直至视野中物像清晰为止。如果物像不在视野中心，可前后左右移动玻片标本位置（注意：玻片移动方向与观察物像移动的方向相反）。如果在调焦时，镜头与标本片的距离已超过工作距离而未见到物像，则应严格按上述步骤重新操作。

（二）高倍镜的使用方法

1. 在低倍镜下找到物像后，将要放大观察的部位移到视野中央。

2. 转动物镜转换器，将高倍镜对准通光孔。操作时从侧面注视标本片，勿使高倍镜与其接触。如果发生高倍镜头碰到玻片不能转换时，应检查原因（如低倍镜的焦距是否调好、标本片是否放反或物镜是否松动等）。

3. 观察目镜，微微转动细调螺旋，使视野中的物像清晰。

（三）油镜的使用方法

1. 在高倍镜中找到标本后，将要观察的部位移动视野中央。

2. 将集光器上升到最高位置，光圈开到最大。

3. 转动物镜转换器，移开高倍镜，在要观察的部位滴加 1 滴香柏油，转换油镜，使油镜与香柏油接触。

4. 观察目镜，同时小心地转动细调螺旋，直到出现清晰物像。

5. 油镜使用完毕，先降低载物台将镜头旋开，然后用拭镜纸蘸少许二甲苯将镜头、玻片上的香柏油擦干净（无盖玻片的标本不能擦，以免损坏标本）。

三、使用显微镜的注意事项

显微镜是一种精密仪器，必须正确使用和保护。

1. 取用显微镜时，要一手紧握镜臂，一手托住镜座，不要单手提拿，防止目镜或其他部件脱落。

2. 显微镜不要放置在实验桌边缘，以免碰翻落地。

3. 放置玻片标本时，有标本的一面向上，否则在高倍镜和油镜下找不到物像，并且容易损坏玻片和镜头。

4. 不要随意取下目镜或拆卸显微镜的各种部件，以防灰尘落入内部或发生丢失损坏等意外事故。

5. 使用显微镜时，操作要正规，养成两眼同睁，两手并用（左手操纵调节螺旋，右手操作标本移动器）的习惯，边观察边记录和绘图。

6. 保持显微镜的清洁，发现灰尘或操作过程中不慎使镜头或载物台沾上染料、水时，应及时擦净。光学和照明部分的镜面只能用拭镜纸轻轻擦拭，切勿用手指、手帕等擦抹，以免磨损镜面。机械部分可以用布擦拭。

7. 显微镜使用完毕应及时复原。关闭电光源，转动粗调螺旋下降载物台，取下标本片，转动物镜转换器，使物镜离开通光孔，然后再上升载物台使接近物镜，下降集光器，关闭光圈，复原标本移动器，把显微镜放回镜箱中锁好。

8. 显微镜在使用前或使用过程中出现问题应及时报告指导教师，并填写使用登记表。

【作业与思考题】

1. 怎样区别低倍镜、高倍镜和油镜？

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？在调焦时为什么要先将低倍镜与标本表面的距离调节到 0.5mm 左右？而油镜则先使其贴近标本片表面？

3. 如果标本片放反了，可用高倍镜或油镜找到标本吗？为什么？

4. 怎样才能准确而迅速地在高倍镜或油镜下找到目标？

5. 如果细调螺旋已转至极限而物像仍不清晰，应该怎么办？

6. 使用显微镜时，出现以下问题应如何解决？

（1）视野太亮，需暗些时。

（2）物像部分或全部偏离视野中心或视野之外。

（3）在显微镜使用完毕送回镜箱时，应注意些什么？

（4）用油镜观察完标本之后，应如何处置？

【附录】

一、DMBA200 生物数码显微镜使用方法（图 2-1-4）

（一）使用前的准备工作

在电脑中安装相应的硬件和软件程序。

（二）使用方法

1. 将“双插头主电源线”的一端插入显微镜的输入端，另一端与供电电源相接。

2. 将“USB2.0 数据线”的一端插入计算机的 USB2.0 数据端口，将另一端插入显微镜的 USB2.0 数据端口。此时显微镜头部的指示灯窗口可以看到一个 LED 指示灯在闪动，表明电路板已经开始工作。

3. 打开显微镜的电源开关，调



图 2-1-4　DMBA200 生物数码显微镜构造

1. 指示灯　2. 目镜　3. 视度补偿圈　4. 双目镜筒　5. 物镜转换器　6. 片夹　7. 机械移动载物台　8. 聚光镜　9. 调焦手轮　10. 集光镜　11. 铰链式双目数码头　12. 瞳距刻度　13. 拉杆　14. 精通紧定螺钉　15. 物镜　16. 粗动调节高度限位调节螺钉　17. 载物台 Y 向调节手轮　18. 电源开关　19. 载物台 X 向调节手轮　20. 亮度调节手轮

节底座上的亮度调节手轮，底座内灯亮。

4. 按照显微镜常规操作方法，将显微镜调整到正常工作状态。

（三）DMBA200 显微镜图像的调整

1. 将显微镜头部上的拉杆拉出至最后一挡，此时显微镜处于既可目视观察又可进行摄像状态。

2. 在计算机中启动软件，在软件界面选择“模块”菜单。

3. 在“软件捕捉”界面中将显示被观察切片的图像，该图像与从显微镜观察到的基本一致。

4. 被观察的图像调整　选定 4×物镜，用显微镜目镜观察→调整粗、细调焦手轮使被观察切片位于焦平面上，保证成像清晰→移动载物台上的切片，使被观察部分位于视野中央→将物镜转换到 40×观察，调整细调焦手轮保证被观察切片位于焦平面上，适当微调切片位置，使切片上被观察部分位于视野中央。

（四）校准

将随机赠送的校准切片（切片上有四个黑色圆点）置于显微镜载物台上，将显微镜图像调节清晰。单击界面上的“设置”菜单下的“校准导向”将引导完成显微镜的校准。

二、几种特殊的光学显微镜

（一）暗视野显微镜（dark-field microscope）

是运用丁道尔（Tyndall）现象设计制造的显微镜，在集光器上加上一块中央遮光板或暗视野集光器，使光源的中央光束不能从集光器的中心部位直接进入物镜，所以视野是暗的。标本内的小颗粒产生的衍射光或散射光进入物镜，在黑暗的背景中呈现明亮的像。这种特殊的照明方式使反差增大、分辨力提高。暗视野显微镜主要观察的是物体的轮廓，不能分辨内部的微细结构。适合于观察未经染色、无色透明的物体的存在和运动以及活细胞的线粒体、质膜、细胞核等结构，分辨率可达 0.004μm（普通显微镜仅能分辨 0.2μm）。

（二）荧光显微镜（fluorescence microscope）

是以紫外线为光源，照射被检物体使之发出荧光，然后在显微镜下观察其形状及其所在位置的一种镜检术。荧光显微镜是细胞荧光化学、特别是免疫荧光技术中的重要工具。荧光显微镜由光源、滤片系统和显微镜三部分构成。荧光显微镜通常用于检测与荧光染料共价结合的特殊蛋白质或其他分子，也可进行活体染色后的活细胞观察。

（三）倒置相差显微镜（inverted phase contrast microscope）

光源和集光器在载物台上方，物镜在下方，这样可将细胞培养标本直接放在载物台上观察。相差显微镜能够改变直射光或衍射光的相位，并且利用光的衍射和干涉现象，把相差变成振幅差（明暗差），同时还吸收部分直射光线，以增大明暗的反差。倒置相差显微镜常用于观察和研究培养的活细胞的微细结构和变化、活细胞的分裂和运动等。

（四）激光共聚焦扫描显微镜（confocal laser scanning microscope，CLSM）

CLSM 是 20 世纪 80 年代初研制成功的一种高光敏度、高分辨率的显微镜。它利用共焦成像的原理，在荧光显微镜成像的基础上加装激光扫描装置，使用紫外线或可见光激发荧光探针，利用计算机进行图像处理。CLSM 可以更准确地检测、识别组织或细

胞内的微细结构及其变化，也可对细胞的受体移动、膜电位变化、酶活性以及物质运转进行测定，并以激光对细胞及染色体进行切割、分离、筛选和克隆。目前，激光共聚焦扫描显微镜技术已用于细胞形态定位、立体结构重组、动态变化过程等研究。

（田　强）

实验二　电子显微镜的结构及其使用

【实验目的】

1. 通过参观、示教或观看录像，了解电子显微镜的主要结构、功能及基本工作原理。

2. 了解电子显微镜的使用技术。

【实验材料】

1. 标本　动物组织样品铜网、生物样品。

2. 器材　透射电子显微镜、扫描电子显微镜。

【内容与方法】

电子显微镜（electron microscope，EM）简称电镜，是研究细胞亚显微结构的有力手段，也是细胞生物学学科建立的基础之一。电子显微镜是由德国科学家 M. Knoll 和 E. Ruska 在 1931 年发明的。电子显微镜的出现，使细胞生物学的研究由显微水平跃进到亚显微水平，极大地推动了细胞生物学的发展。

电子显微镜利用波长很短的电子束为照明源，用电磁透镜成像，辅以特定的机械装置和高真空技术，利用多级电磁透镜来控制电子的运动轨迹，使其偏转、聚焦或散射，从而通过对样品透射或反射形成不同电子密度的高度放大图像，最后显示在荧光屏上或被记录在照相装置上。目前，最好的电镜分辨率可达 0.2nm，能观察到细胞膜、细胞核、线粒体、核糖体等细胞器的微细结构，还可以观察到一些特殊的大分子。电子显微镜的基本光学原理与光学显微镜相似，但成像原理有本质上的差异（图 2-2-1）。

根据工作方式的不同可以将电子显微镜分为两类：透射电子显微镜和扫描电子显微镜。

一、透射电子显微镜的结构和使用

（一）结构

透射电子显微镜（transmission electron microscope，TEM）是以电子枪发射的高速电子束作为照明源，经高压加速和聚光透镜的聚焦，然后穿过样品，再经过多级电磁透镜的放大，最后将高度放大的图像显示在荧光屏上或记录在照相装置中。透射电子显微镜的观察标本必须经过特殊的超薄切片，因此仅用于细胞内部结构的观察。

透射电子显微镜主要由电子光学系统、真空系统和供电系统组成（图 2-2-2）。

1. 电子光学系统　包括电子枪、电磁透镜、样品室、观察窗和照相机等，共同构成镜筒部分，是电镜的主体部分。其作用是对标本实行放大、成像、观察和记录。电镜与光镜的最大区别即在于此部分，它以高速运动的电子束代替光线，以电磁透镜代替玻璃透镜，这样分辨力大大提高。

2. 真空系统　包括机械泵、空气过滤器、油扩散泵、排气管道等部件。高速运动

需要全本请访问 www.ertongbook.com