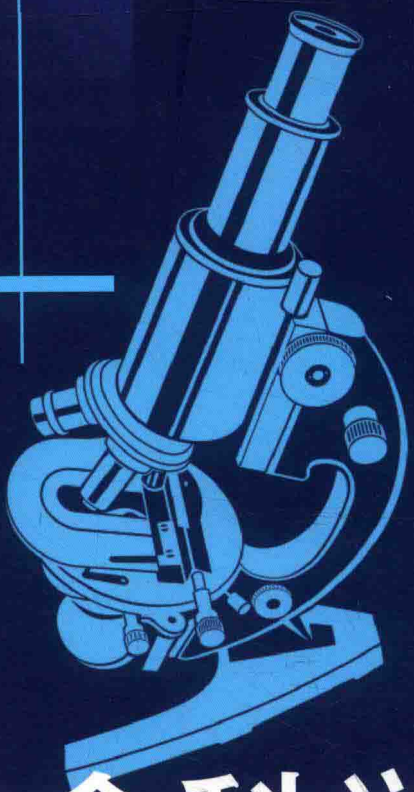
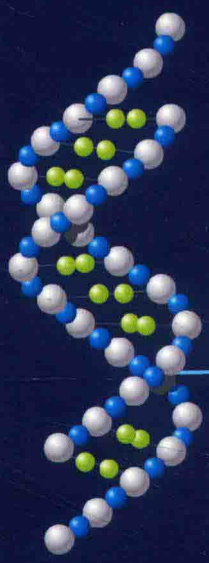


基础生命科学实验指导

冯虎元　牛炳韬　孟雪琴　主编



兰州大学出版社
LANZHOU UNIVERSITY PRESS

需要全本请访问 www.ertongbook.com

基础生命科学实验指导

主编

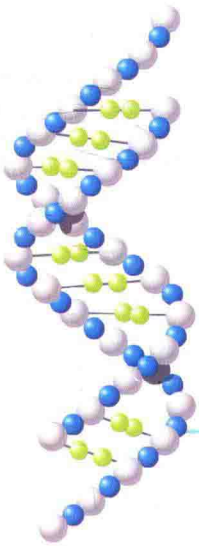
冯虎元　牛炳韬　孟雪琴

编委（按姓氏拼音排序）

白　璐　冯虎元　骆　爽　马　明

孟雪琴　牛炳韬　潘建斌　沈　喜

田晓柱　张巧颖　张仁懿　张　睿



兰州大学出版社

LANZHOU UNIVERSITY PRESS

图书在版编目（CIP）数据

基础生命科学实验指导 / 冯虎元，牛炳韬，孟雪琴主编. -- 兰州 : 兰州大学出版社，2017.3
ISBN 978-7-311-05132-7

Ⅰ. ①基… Ⅱ. ①冯… ②牛… ③孟… Ⅲ. ①生命科学－实验－高等学校－教学参考资料 Ⅳ. ①Q1-0

中国版本图书馆CIP数据核字(2017)第048266号

策划编辑 梁建萍
责任编辑 郝可伟
封面设计 郇 海

书 名 基础生命科学实验指导
作 者 冯虎元 牛炳韬 孟雪琴 主编
出版发行 兰州大学出版社 （地址:兰州市天水南路222号 730000）
电 话 0931-8912613(总编办公室) 0931-8617156(营销中心)
0931-8914298(读者服务部)
网 址 http://www.onbook.com.cn
电子信箱 press@lzu.edu.cn
印 刷 甘肃兴方正彩色数码快印有限公司
开 本 787 mm×1092 mm 1/16
印 张 20.25(插页2)
字 数 420千
版 次 2017年3月第1版
印 次 2017年3月第1次印刷
书 号 ISBN 978-7-311-05132-7
定 价 32.00元

（图书若有破损、缺页、掉页可随时与本社联系）

前　言

国家的创新驱动离不开生命科学。一方面，生命科学已经渗透到世人关注的能源、环境、食品安全、人口和资源等领域；另一方面，生命科学的大部分理论来源于实践，又指导生产实践和科学研究。培养具有扎实实验技能和创新能力的学生是生命科学人才培养责无旁贷的使命。为了适应社会发展对人才培养的要求，适应新一轮创新驱动为目标的人才培养体系，我们结合多年积累的实验素材和实验教学经验，参阅国内外相关文献资料，编写了本书。

本书是基于兰州大学在全校开设非生命科学专业“普通生物学实验”课程而编写的。本书由国家级生物学实验教学示范中心的大部分教师分工合作，历经两年时间而成。

全书共分六篇：第一篇“显微镜的结构与使用”包含三个实验，由潘建斌和张巧颖编写；第二篇“形态结构与生理功能”由二十三个实验组成，分别由骆爽、潘建斌、张巧颖、牛炳韬、白璐和马明编写；第三篇“生长发育与物质代谢”含有二十个实验，由张巧颖、张仁懿、潘建斌、白璐、张睿、马明和田晓柱负责编写；第四篇“遗传变异与性状表达”包含九个实验，由牛炳韬和张仁懿分别编写；第五篇“生物多样性与生态环境”包括九个实验，由张仁懿、白璐和骆爽负责编写；第六篇“生物技术”由十个实验组成，由张巧颖、沈喜、潘建斌和白璐负责编写。八个附录由骆爽、牛炳韬和张巧颖编写。每个实验由实验目的与要求、实验背景与原理、器材与试剂、实验操作与步骤、实验结果与分析、注意事项、作业与思考和参考文献组成。

本书内容定位于中学阶段学有所长的学生，大学非生命科学类专业学生，或可适用于生物技术和生物工程专业的基础实验。编写过程结合使用对象和适用对象的水平，力争内容简洁，语言通俗，可读性强，趣味性浓，可操作性佳，强调实验能力和动手能力培养。通过上述实验，掌握生命科学研究的基本技术和技能，加深对生命现象的理解和解释，提高学生热爱生命科学的兴趣，培养学生的科学工作态度和科研协作精神，以适应新形势下创新型人才培养的要求。全书由冯虎元、牛炳韬

和孟雪琴确定编写提纲、框架结构和编写体例。书稿完成后，由冯虎元、牛炳韬和孟雪琴负责统稿。

本书的出版得到了国家基础科学人才培养科学基金（J1210077、J1210033、J110350）和兰州大学教材建设基金项目的资助。兰州大学教务处、生命科学学院的领导和国家级实验教学示范中心的教师积极支持和鼓励本书的编写出版，也得到兰州大学出版社郝可伟编辑、梁建萍编辑的支持与帮助，在此表示深深的谢意。

由于时间仓促和我们的编写水平有限，错误和不当之处在所难免，祈请在使用中提出宝贵意见和建议，以便进一步完善。

编　者

2016年12月11日于金城

需要全本请访问 www.ertongbook.com

目　录

第一篇　显微镜的结构与使用 ……001

实验一　光学显微镜的结构与使用 ……001
实验二　体视显微镜的结构与使用 ……005
实验三　荧光显微镜的结构与使用 ……007

第二篇　形态结构与生理功能 ……010

实验四　临时装片的制作与观察 ……010
实验五　细胞(器)的形态结构观察 ……013
实验六　细胞骨架的观察 ……016
实验七　植物细胞的形态结构及后含物 ……019
实验八　花的结构与花序类型 ……023
实验九　果实(种子)的结构与类型 ……029
实验十　花粉形态观察和萌发率的测定 ……032
实验十一　蛔虫的解剖和内部结构观察 ……035
实验十二　环毛蚓的解剖和内部结构观察 ……038
实验十三　蝗虫的解剖及内部结构观察 ……042
实验十四　果蝇的生活史观察 ……046
实验十五　鱼的外形和内部解剖 ……052
实验十六　黑眶蟾蜍的外形和内部解剖 ……057
实验十七　微生物的纯培养和形态观察 ……063
实验十八　微生物的简单染色及形态观察 ……068
实验十九　人体动脉血压的测定及其影响因素 ……072
实验二十　心率的动态平衡及其影响因素 ……076
实验二十一　人体心电图及指脉的描记 ……079
实验二十二　生物体维持pH稳定的机制 ……083
实验二十三　反射时的测定及反射弧的分析 ……087
实验二十四　视力的测定 ……090
实验二十五　视野的测定 ……093

实验二十六　盲点的测定 ……096
第三篇　生长发育与物质代谢 ……099
实验二十七　叶绿体的分离纯化 ……099
实验二十八　环境因素对光合作用强度的影响 ……102
实验二十九　被子植物胚的发育 ……105
实验三十　培养液中酵母菌数量的变化 ……108
实验三十一　细胞生死状态的鉴别 ……111
实验三十二　植物细胞的吸水和失水的观察 ……113
实验三十三　细胞大小与物质运输的关系检测 ……116
实验三十四　种子生活力的快速测定 ……119
实验三十五　植物呼吸测定——小篮子法 ……122
实验三十六　叶绿体色素的提取、分离及理化性质 ……125
实验三十七　植物组织中糖含量的测定 ……133
实验三十八　食用油碘值的测定 ……137
实验三十九　蛋白质的鉴定与唾液淀粉酶活力的测定 ……141
实验四十　果蔬维生素C的含量测定 ……144
实验四十一　ABO血型的鉴定 ……148
实验四十二　血细胞的计数 ……152
实验四十三　出血时间及凝血时间的测定 ……156
实验四十四　血红蛋白含量的测定 ……158
实验四十五　临床血糖指标的定量测定 ……161
实验四十六　巨噬细胞的吞噬诱导现象观察 ……164
第四篇　遗传变异与性状表达 ……167
实验四十七　植物细胞的有丝分裂观察 ……167
实验四十八　植物细胞的减数分裂观察 ……172
实验四十九　果蝇的单因子杂交实验 ……177
实验五十　果蝇的伴性遗传实验 ……182
实验五十一　果蝇唾腺染色体制片与观察 ……186
实验五十二　蚕豆根尖细胞的微核检测 ……192
实验五十三　噬菌体感染及效价测定 ……198
实验五十四　人类部分单基因体表性状统计分析 ……204
实验五十五　性状分离比的模拟 ……212
第五篇　生物多样性与生态环境 ……215
实验五十六　校园植物的观察与识别 ……215

实验五十七　草地中某种双子叶植物的种群群密度调查 ……223
实验五十八　土壤微生物的分解作用 ……226
实验五十九　常见动物的识别 ……231
实验六十　土壤动物的采集与丰富度研究 ……239
实验六十一　水体原生动物的观察 ……242
实验六十二　Lincoln指数法和去除取样法调查种群数量 ……245
实验六十三　NetLogo软件模拟“羊吃草”的生态过程 ……249
实验六十四　达·芬奇树干模型的验证 ……257
第六篇　生物技术 ……260
实验六十五　荧光原位杂交技术观察细胞中DNA的分布 ……260
实验六十六　原核生物基因组DNA的提取与纯化 ……264
实验六十七　PCR法扩增细菌热休克蛋白基因 ……268
实验六十八　琼脂糖凝胶电泳检测核酸片段 ……274
实验六十九　不同植物叶片总DNA的比较 ……279
实验七十　人微量样本的性别检测 ……282
实验七十一　动物细胞的培养 ……288
实验七十二　植物原生质体的分离和培养 ……293
实验七十三　植物塑化标本的制作 ……296
实验七十四　酸乳的制作 ……299
附　录 ……302
附录一　实验室守则 ……302
附录二　实验室安全应急措施 ……303
附录三　实验报告的撰写要求 ……305
附录四　生物绘图方法 ……306
附录五　玻璃器皿的清洗与灭菌 ……308
附录六　实验室常用染液的配制 ……310
附录七　实验室常用溶液的配制 ……313
附录八　果蝇培养基的配制 ……316

第一篇　显微镜的结构与使用

实验一　光学显微镜的结构与使用

一、实验目的与要求

1. 掌握光学显微镜的结构组成及工作原理。
2. 掌握光学显微镜的使用与保养。

二、实验背景与原理

人类探索自然的好奇心驱动、推动了仪器设备工具等的发明，显微镜的出现就是一例。多数人有这样的儿时经历，带上小伙伴，抓几只蚂蚁，然后用玻璃瓶底聚集的光束照耀蚂蚁，蚂蚁感受到光束的热量，到处乱跑。或者，把玻璃瓶底部不断变换角度，放大伙伴的皮肤和毛发等。科学家把光聚焦和物体放大的原理不断升级，发明了显微镜（Microscope）。

显微镜是生物科学研究和教学过程中最重要和最常用的工具之一。显微镜可分为光学显微镜和电子显微镜，光学显微镜利用光学成像原理把被观察的物体放大几百倍甚至上千倍，从而使人们能够对微小的生物或者生物体的组织和细胞进行观察。光学显微镜的种类很多，结构和功能不尽相同。常用的有普通光学显微镜、相差显微镜、荧光显微镜。电子显微镜是使用电子束代替光线的一类显微镜，其分辨率比光学显微镜高1 000倍。从事生物科学的学习和研究，就必须了解显微镜的基本构造和性能，掌握正确的使用方法。

三、普通光学显微镜的基本结构

（一）机械部分（如图1-1）

1. 镜座（microscope base）

镜座是显微镜底部，多为宽大的蹄形或长方形，是显微镜承重部分。

2．镜柱（microscope column）

镜座上有一直立的短柱，此柱即为镜柱，有的显微镜镜柱与镜座之间有可倾斜活动的关节，用以调节镜体角度。

3．镜臂（microscope arm）

镜柱上连一弯曲的镜臂，便于用手把握。镜臂顶端有物镜转换器和镜筒。

4．物镜转换器（revolving nosepiece）

物镜转换器为一可旋转的圆盘，下面附有2～4个物镜，物镜以螺旋旋入的方式固定在转换器上。

5．载物台（stage）

载物台是放置玻片、标本的地方。载物台的中央有一圆孔，可通过来自下方的光线；载物台上装有玻片移动器（slide adjuster），玻片移动器上的压片夹的作用是固定玻片标本。载物台下方一侧有玻片移动器调节螺旋（slide adjuster wheel），分为上、下两个手轮，分别用于调节标本移动器横向和纵向移动。标本移动器上还带有标尺，可以通过横、纵坐标值记录观察点的位置，便于再次寻找。

6．调焦螺旋（adjuster wheel）

镜柱的两侧各有粗、细调焦螺旋，转动调焦螺旋可使载物台上升或下降，从而调节物镜镜头与所观察的玻片标本间的距离，以获得清晰的图像。粗、细调焦螺旋常组合在一起，外围直径大的为粗调焦螺旋，可大范围升降对焦；中央直径小的为细调焦螺旋，在图像已出现但仍模糊不清时，可用其做精确对焦，获得更清晰的图像。



图1-1　普通光学显微镜的结构

（二）光学部分

1. 物镜（objective）

常见的物镜镜头有低倍镜（4×、10×）、高倍镜（40×）、油镜（100×）。转动转换器，可以换用物镜。

2. 目镜（ocular）

物镜转换器上方连有两个圆筒状的镜筒，镜筒上端有目镜，可以从镜筒内抽出。目镜一般有5×或10×。两镜筒之间的距离一般可调节，以适应观察者的眼间距，从而使两目镜内的视野完全重合。

3. 聚光器（condenser）

载物台中央圆孔下方，有一聚光器，由2～3块凸透镜片组成，用于聚集来自下方的光线，通过载物台圆孔射到玻片标本上。在靠近镜柱处为聚光器螺旋，可调节聚光器上下移动，从而调节视野的明暗。

4. 虹彩光圈（iris diaphragm）

聚光器下附有一组由金属片组成的虹彩光圈（或可变光阑），其侧面有一调节杆，推动调节杆可调节光圈大小。光圈开大则上行光线较强，适于观察色深的标本；光圈缩小则光线较弱，适于观察透明或色浅的标本。

5. 光源（light source）

镜座处有一内置电光源，通电后电光源产生光线透过其上的透镜射于聚光器上。镜座的后侧或两侧有电源开关和光量调节器，光量调节器用于调节光线的强弱。

四、普通光学显微镜的使用方法

1. 取放

拿取显微镜时，应右手握镜臂，左手托住镜座，保持镜体直立，轻拿轻放。严禁单手拿显微镜。将显微镜放置于实验台距边缘30 cm处、身体的左前方，腾出身体右侧位置进行观察、记录和绘图。

2. 对光

打开电源开关。目镜对向观察者，转动物镜转换器，使低倍物镜对准聚光器，观察者眼睛自目镜内观察，调节光量调节器，使视野内光线亮度适宜为止。

3. 低倍镜观察

光线对好后，将玻片标本放在载物台上，有盖玻片的一面朝上，并用压片夹卡紧。移动玻片移动器，使盖玻片下所要观察的标本移到物镜镜头正下方，即载物台圆孔正中间。开始调焦：眼睛先不要看目镜内，而是从侧面注视，转动粗调焦螺旋，使低倍物镜镜头与载物台上玻片之间的距离缩小至5 mm，然后再从目镜观察，同时慢慢反向转动粗调焦螺旋，使物镜镜头与玻片间距离渐渐增大，直到基本看清物像为止。若找不到物像，则重复以上过程。看到物像后，再转动细调焦螺旋，并且移动玻片移动器，使所要观察的标本清晰地出现在视野中。如果光线不

需要全本请访问 www.ertongbook.com

适，可以拨动虹彩光圈的调节杆和聚光器螺旋，使光线及明暗对比适宜。

4．高倍镜观察

在低倍镜下观察清楚后，若需用高倍镜观察，则首先在低倍镜下将所要详细观察的标本部分移至视野正中央，并且调焦清楚，然后转动物镜转换器，使高倍物镜转至玻片标本上方的工作位置（高倍物镜镜头几乎与玻片接触），这时自目镜观察，只要稍微转动一下细调焦螺旋即可获得清晰的图像。高倍镜下观察，光线应调亮一些。

转动玻片移动器调节螺旋的两个手轮，一行一行扫描式地观察盖玻片下的标本。观察完后若要更换玻片标本，则先将高倍物镜换成低倍物镜，再换玻片。

5．油镜观察

高倍镜观察结束后，若需要更微观地观察，可以用油镜。在高倍镜（40×）下将需要油镜观察的标本部分移至视野正中央，调焦清晰后，转动物镜转换器，将40×的物镜转开，吸取一滴香柏油滴在盖玻片上的观察区域，然后慢慢转动物镜转换器，将100×的油镜镜头转至工作位置（镜头浸没在香柏油中，几乎与玻片接触），这时自目镜观察，虹彩光圈调大一些，再稍微转动一下细调焦螺旋，即可得到清晰的物像。观察完后，将油镜镜头转开，用擦镜纸擦去镜头及玻片上的香柏油，再用擦镜纸沾少许二甲苯或镜头清洗液，轻轻擦拭油镜头后，立即用新的擦镜纸沾拭干净镜头上的二甲苯。

显微镜用完后，关闭电源；将4×物镜转至中央通光孔；取下玻片标本；转动粗调焦螺旋，使载物台下降到底部，以免调焦螺旋的轴承力太久而滑丝。

五、注意事项

1．每次观察都应先低倍镜，然后再换高倍镜。换玻片时，不可在高倍镜下直接取换，应先转开高倍镜再取换。

2．调焦时，转动调焦螺旋，使物镜镜头与玻片间距离由小到大来对焦，反之则易将玻片标本压碎且损坏镜头。高倍镜观察时也应小心，不要轻易转动粗调焦螺旋，否则易压碎玻片。

3．擦拭镜头时，只能用专用的擦镜纸，不能用棉花或卫生纸等其他物品擦拭，擦拭时从一个方向轻轻擦拭镜头。

4．保持显微镜的清洁，注意防尘，显微镜用完后应盖好防尘罩。

六、作业与思考

1．用普通光学显微镜观察玻片标本时，若要看清视野左侧物像，应该如何移动玻片，为什么？

2．用普通光学显微镜观察玻片标本时，把物镜从低倍镜换至高倍镜时，应注意哪几点？

实验二　体视显微镜的结构与使用

一、实验目的与要求

1. 掌握体视显微镜的结构组成及工作原理。
2. 掌握体视显微镜的使用与保养。

二、实验背景与原理

体视显微镜（stereoscopic microscope）又称解剖镜，是一种具有正像立体感的目视仪器，它有多种类型，目前使用最多的是连续变倍体视显微镜。植物学领域常用于观察花的解剖、植物的表面细微结构，动物学领域常用于观察昆虫及其他小型动物的形态与结构。通过体视显微镜形成的物像不再是倒置的，同时由于其内部透镜与棱镜的组配能使人观察到立体或三维的物像。这样的透镜系统使体视显微镜的放大率有限，一般为5～50倍，有的体视镜也可达到100～200倍。

三、体视显微镜的基本结构



图2-1　体视显微镜的结构

体视显微镜的结构主要由以下部分组成（图2-1）。

1. 目镜：2个，双目斜筒式，呈一定角度排列。

2. 物镜：1个，为公用初级物镜。

3. 镜筒：2个，中空管状结构。

4. 镜臂：拿取显微镜的地方。

5. 镜座：起稳定和支持镜体的作用。

6. 载物台：位于镜座中央，通常为活动圆板，用于放置观察样本。

7. 调焦螺旋：可以使镜体升降以调节焦距。

8. 变倍螺旋：可以通过调节变倍螺旋改变中间物镜组之间的距离，改变图像的放大倍率。

四、体视显微镜的使用方法

1. 取放镜

取放镜的过程与普通光学显微镜基本相同。

2. 灯光照明

插上电源，打开透射和反射光源开关，调节到所需亮度。

3. 调焦

将被观察样本置于工作台中间，调节调焦螺旋，直到在目镜中看清物像为止。

4. 变倍

调节变倍螺旋，可对样本进行放大或缩小观察。

5. 目镜间距调节

转动目镜管，使两个目镜间的距离适合于两眼的距离。

五、注意事项

1. 体视显微镜放置环境要防潮防尘。保持体视显微镜的清洁，流入载物台或者是镜头上的液体等要及时擦干。

2. 使用完体视显微镜，必须按照规定步骤进行复原，要检查是否关好电源，不要马上盖防尘布，要等到冷却后再盖上。同时要将物镜调节到最低状态，平时要多检查是否有螺丝松动。

六、作业与思考

1. 比较体视显微镜和普通光学显微镜的放大倍数。

2. 比较体视显微镜和普通光学显微镜的使用范围。

3. 比较体视显微镜调焦螺旋和变倍螺旋的区别。

实验三　荧光显微镜的结构与使用

一、实验目的与要求

1. 掌握荧光显微镜的结构组成及工作原理。
2. 掌握荧光显微镜的使用与保养。

二、实验背景与原理

荧光显微镜（fluorescence microscope）是利用物质发出的荧光来成像的显微镜。由于激发光和荧光的波长不同，它们的颜色亦不同。一般来说，用绿光可以激发出红色荧光，用蓝光可以激发出绿色荧光，用紫外光可以激发出蓝色荧光。细胞的有些物质成分不经过染色能发出荧光，称为自发荧光（auto-fluorescence），例如植物细胞的叶绿素。但细胞内的大部分成分没有自发荧光，因而要对其结构进行荧光标记或者染色后才能观察，这种荧光称为诱发荧光（induced fluorescence）。

三、荧光显微镜的基本结构

荧光显微镜的基本结构包括：光源、滤色镜系统、物镜、检测系统、荧光显微镜的光路。

1. 光源

为了获得足够的荧光信号，荧光显微镜成像一般都需要很强的光源，常用光源有高压汞灯、高压氙灯和高压卤素灯。以目前常见的高压汞灯为例，100 W的标准高压汞灯在365 nm、405 nm、435 nm、546 nm和577 nm波长处都有发射峰。高压汞灯在开启的过程中会产生高压，所以其电源要与其他设备分开。使用荧光显微镜之前，一般先打开高压汞灯，汞灯稳定之后再打开其他设备。使用时应当集中使用时间，避免反复开关。

2. 滤色镜系统

为获得特定波长的激发光和无干扰的荧光信号，荧光显微镜配有相应的滤色镜系统，主要包括：激发滤色镜、阻断滤色镜和分色镜。

（1）激发滤色镜（excitation filter，EF）又称为激发滤光片，是对激发光起选择作用的滤色镜。激发滤色镜只允许一定波长或带宽的激发光通过到达样品，以避免不必要的光吸收和干扰。激发滤色镜在光路上的位置处于激发光进入物镜之前，一般位于光源和分色镜之间。

（2）阻断滤色镜（barrier filter，BA）又称为阻断滤光片，其作用是阻断激发光。阻断滤色镜在光路上的位置处于荧光通过物镜之后，一般位于目镜和分色镜之间。

（3）分色镜（dichroic beam splitter，DM）又称为二向色镜，是荧光显微镜中对光路进行控制的特殊滤色镜。分色镜的特殊镀膜能有效地反射激发光，而荧光则能有效通过。分色镜在光路上的位置处于激发光和荧光通路的交叉处，方向与这两个光路均为45°。

3．物镜

荧光显微镜对物镜有一定的要求，应使用自身无荧光的物镜，在放大倍数相同的情况下，应尽可能选择数值孔径大的物镜。

4．检测系统

荧光显微镜一般使用电荷偶联装置（charge coupled device，CCD）来成像，取代了原来的胶卷。荧光显微镜一般都采用冷的CCD，其高敏感度和低噪音性可以实现弱荧光信号的检测和采集。不同成像软件的界面和使用大同小异，其主要功能是曝光的控制、图像的采集和分析等。

5．荧光显微镜的光路

荧光显微镜根据光路可以分为两种：一种是透射式荧光显微镜（transmission fluorescence microscope），激发光通过位于标本另一侧与物镜相对的激光器投射到标本上。另一种是落射式（反射式）荧光显微镜（epifluorescence microscope），这种显微镜使用物镜本身作为集光器，激发光从物镜向下落射到标本表面，而激发出的荧光发射后同样也由该物镜收集，因此，荧光的激发和观察都是从标本的上方进行的，并且能避免不必要的荧光衰减。

四、荧光显微镜的使用方法

不同的荧光显微镜其使用方法基本相同，下面以Olympus BX53荧光显微镜（如图3-1）为例来具体说明荧光显微镜的使用过程。



图3-1　Olympus BX53荧光显微镜

1．汞灯的开启

汞灯在开启的过程中会产生高压和干扰信号，在打开其他设备前，先打开汞灯。汞灯一旦点亮，一般30 min之后再关闭。若短时间内不使用激发光可用遮光板先挡住光线，而不可关闭汞灯。一旦关闭汞灯，在汞灯冷却之前不要再次打开。

2．汞灯的调中

为获得最佳的观察效果，应对激发光源进行调节，以获得亮度足够和均匀的激发光。其中汞灯调中是关键的一步。

（1）转动滤色镜组件至B激发或G激发处，在转动滤色镜组件的过程中不要观察目镜，防止紫外光进入眼睛。

（2）拉出视场光阑的拉杆，使光阑直径最小；推进孔径光阑拉杆，使之开到最大。

（3）在载物台上放一张白纸，旋转物镜转换器，使无物镜的空位置进入光路，卸下防尘盖，使光线投射到白纸上。

（4）调节汞灯的调焦和调中旋钮，使灯丝像聚焦，并使汞灯的灯丝像和镜像重合。

3．样品的观察和照相

（1）将带有荧光标记的样品放在载物台上，旋转物镜转换器，将“10×”物镜转入光路，拨动滤色镜组件调节转盘，使相应的滤色镜组件进入光路。

（2）聚焦样品，用视场光阑调节显微镜视场的照明区域大小。使视场光阑的边缘与视场的圆相接。

（3）用孔径光阑来调节激发光的强度。为避免荧光衰减，不宜使用过强的激发光。

（4）找到所需结构，并移到视野中央，拨动遮光杆，利用遮光板关闭光路。

（5）打开电脑控制软件，结合物镜的分辨率设置图像的采集像素。像素的大小可根据奈奎斯特标准（Nyquist criterion）设置，一般是显微镜分辨率的1/3～1/2。

（6）设置CCD的曝光时间。曝光时间起始值宜设置为较低值，如30 ms左右，以免CCD长时间暴露在强光下。

（7）拨动遮光杆，打开光路，点击“Live”，开始采集图像，调节显微镜调焦旋钮使计算机上的图像聚焦。

（8）调节曝光值使计算机上的图像清晰、亮度合适、所需结构亮度不过饱和。

（9）点击“照相”，保存图像。

（10）实验结束后，依次关闭软件、计算机和汞灯。

五、思考题

1．汞灯激发器在使用过程中需要注意哪些问题？

2．荧光显微镜在使用中要求荧光信号非常明亮，同时要求无信号视野非常黑暗。请问是如何实现视野黑暗的？

需要全本请访问 www.ertongbook.com