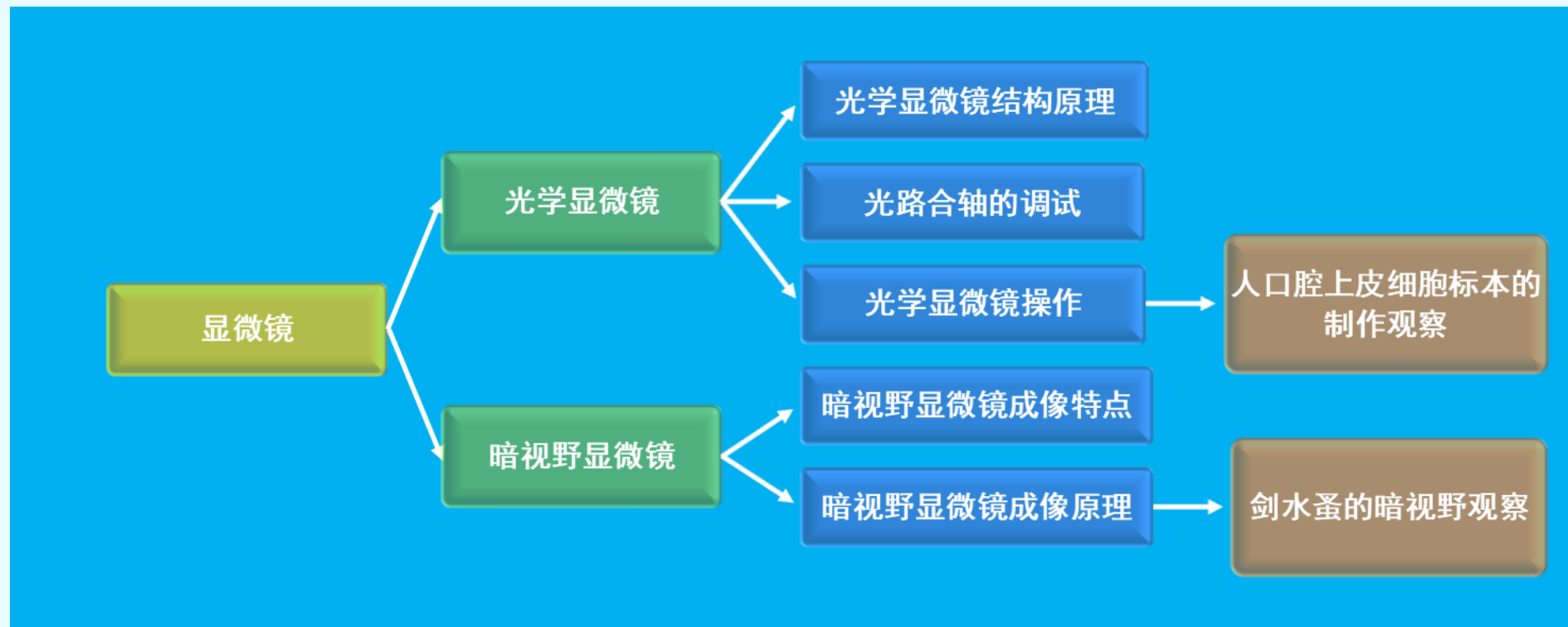


# 实验一 光学显微镜的调试和观察

# 思维导图



# 预习问题

- 讲讲列文虎克的生平
- 光学显微镜的基本结构及其功能
- 光学显微镜呈像的基本原理
- 聚光器的基本结构组成
- 如何计算成像的倍数
- 什么叫光轴合一，如何调节？
- 显微镜的标准使用过程。
- 暗视野显微镜可以观察物体的原理及特点
- 如何利用普通光学显微镜制造暗视野效果？
- 为什么要设计两种光源的显微镜：透射显微镜和落射显微镜？



# 一、实验目的

- (1) 掌握普通光学显微镜的标准操作；
- (2) 学会光学显微镜光路合轴的调试；
- (3) 通过人口腔上皮细胞形态的规范观察，进行标准的生物绘图；



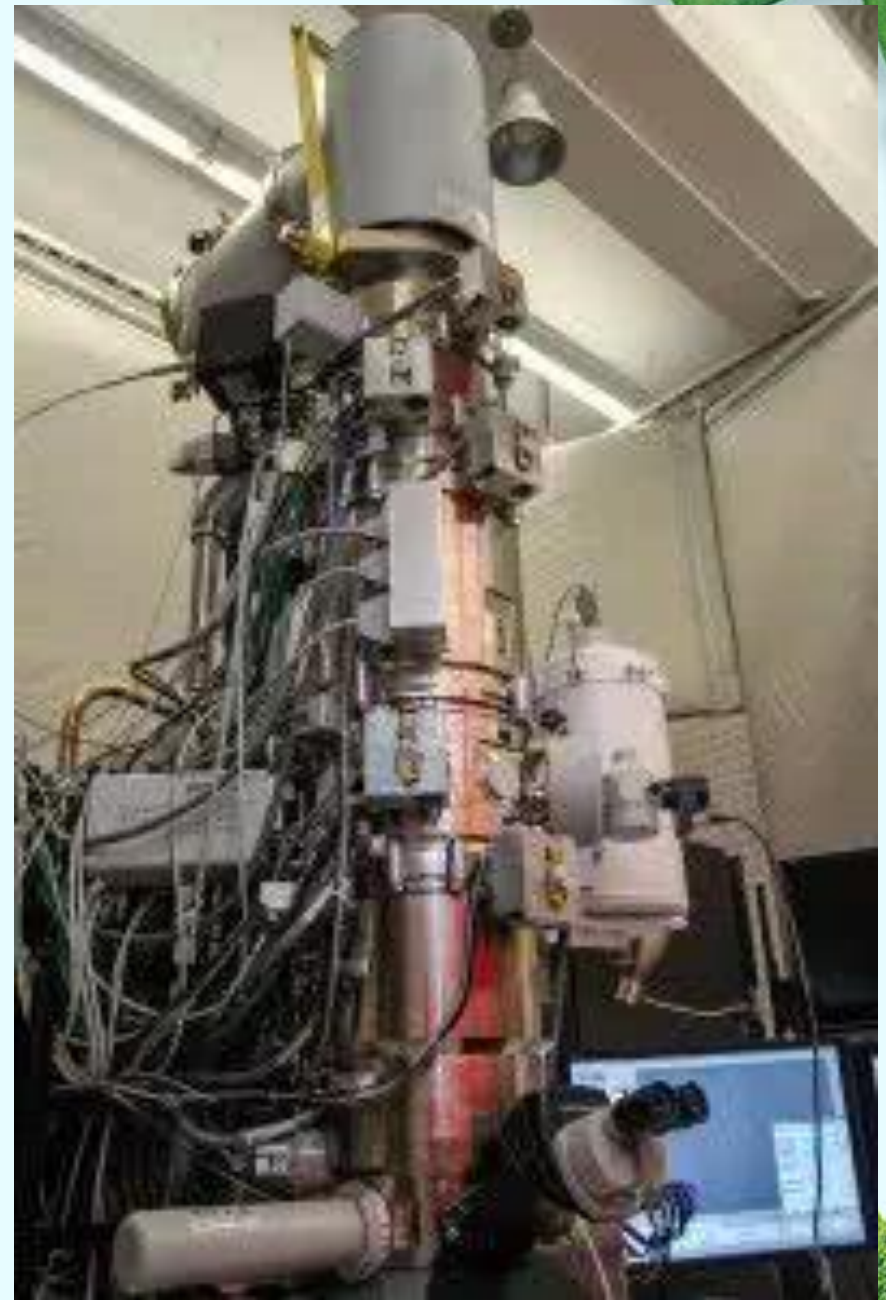
# 显微镜是个？

- 人的眼睛能识别大小为 $0.1\text{ mm}$ 的物体。
- 显微镜是一个精密的放大仪器——1微米。



# 1. 显微镜的发展

- 《自然》：电镜图像分辨率的最新吉尼斯世界纪录，达到0.04纳米（2018）
- 大概是普通原子—原子键长的三分之一到五分之一，
- 头发丝直径的二百五十万分之一（相当于一只蚂蚁的长度和珠穆朗玛峰高度的比值）。



美国康奈尔大学CCMR网站

- **制作显微镜**：17世纪，荷兰眼镜商亚斯·詹森和荷兰科学家汉斯·利珀希。
- **科学上使用显微镜**：  
意大利科学家伽利略，1611年通过显微镜对一种昆虫的复眼进行了描述。
- **显微镜之父**  
荷兰亚麻织品商人列文虎克（1632-1723），放大率竟达**270**倍。首次发现微生物和单核生物，最早记录肌纤维、微血管中血流。受精就是在精细胞穿进卵中而发生的。

在他的一生当中磨制了了419个透镜片，制成了247台显微镜

## 列文虎克

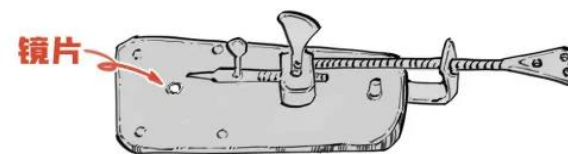
这是什么极品  
...镜片?

列文虎克对用来观察布料的放大镜很感兴趣。

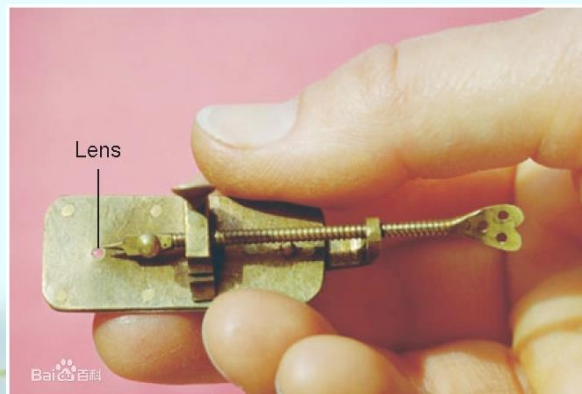
后来，他尝试自己加工镜片。



在磨镜片这事上，他可以说是天赋异禀，  
镜片放大效果超过两百倍。他当时做的显微镜大概长这样：



这款改良的显微镜对微生物学做出巨大贡献，  
列文虎克也被称为“显微镜之父”。



1673~1677年期间，  
给英国皇家学会连篇累牍地写375长信，被刊登在《巴黎科学院院刊》上。1680年他被选为法国科学院院士。

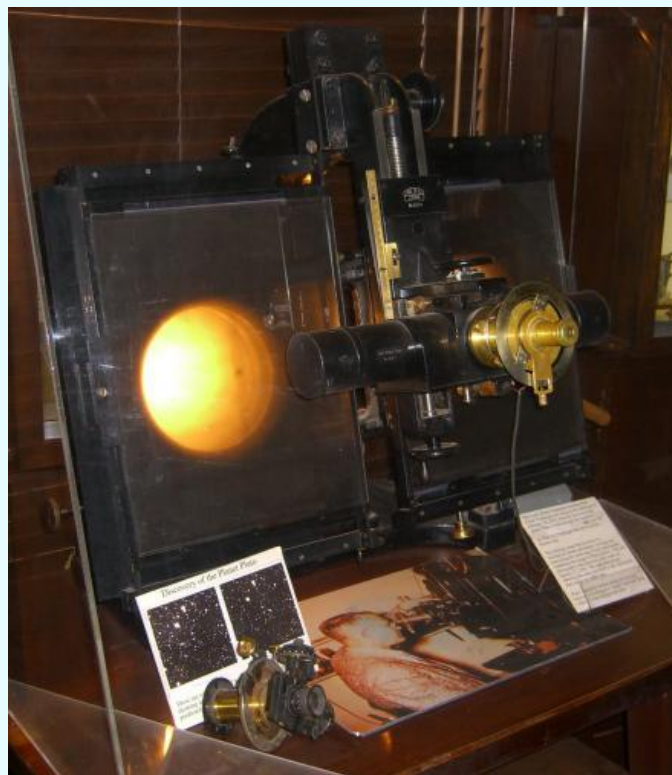
91岁临终，为英国皇家学会建立了一个实验室，赠送了26台大小不同的显微镜和数百个放大镜。

列文·虎克制成单组元放大镜式的高倍显微镜，  
**九台保存至今。**





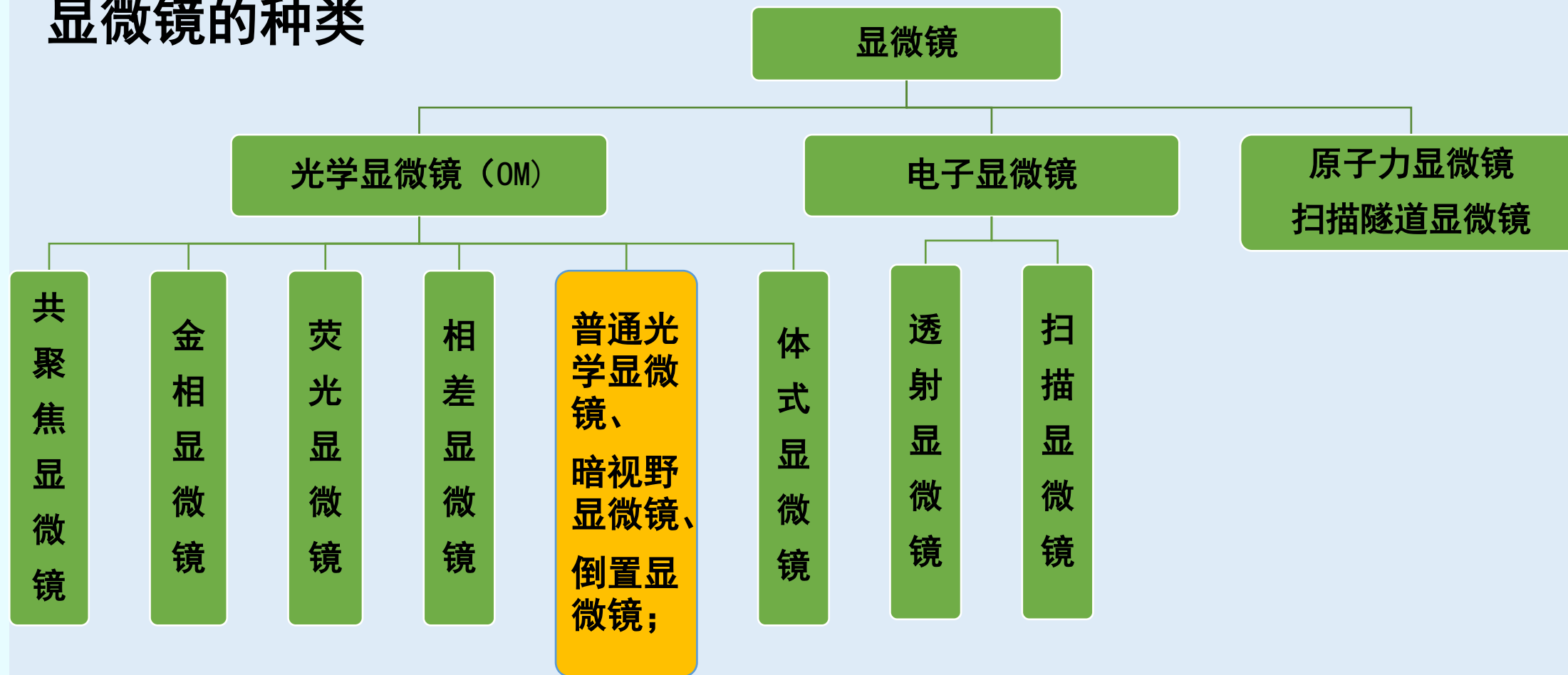
**颜明哲：**初中时便自制简易望远镜，看到了放大20倍的月亮。自制望远镜四代：500毫米的牛顿反射望远镜，能将观测物体放大约1000倍。太阳系八大行星能清楚观测到五个。观测最远距离是250万光年的仙女座大星云。（2022年，55岁）



**克莱德·威廉·汤博**（Clyde William Tombaugh 1906年2月4日 - 1997年1月17日），23岁发现冥王星，没上过大学的农家子弟。被堪萨斯大学和北亚利桑那大学授予天文学学位。从1955年起，在新墨西哥州立大学任教直到退休。



# 显微镜的种类





外置光源

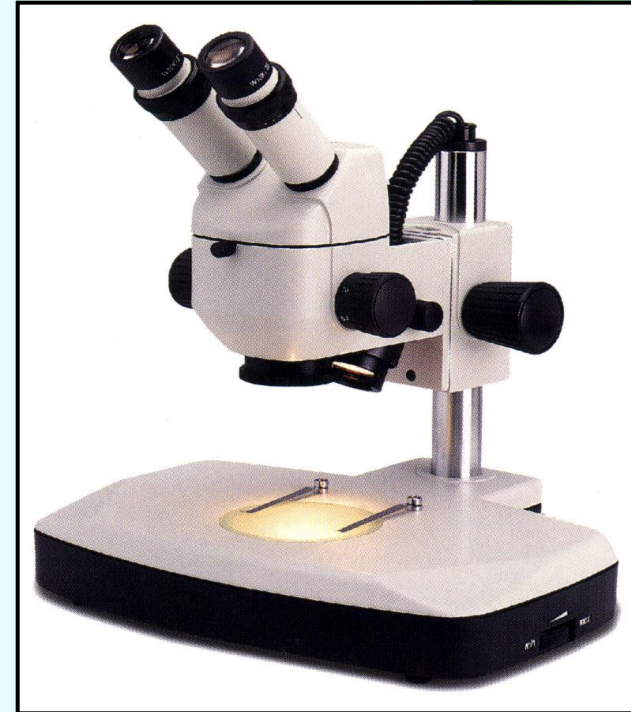


内置光源



普通光学显微镜

双目单目显微镜



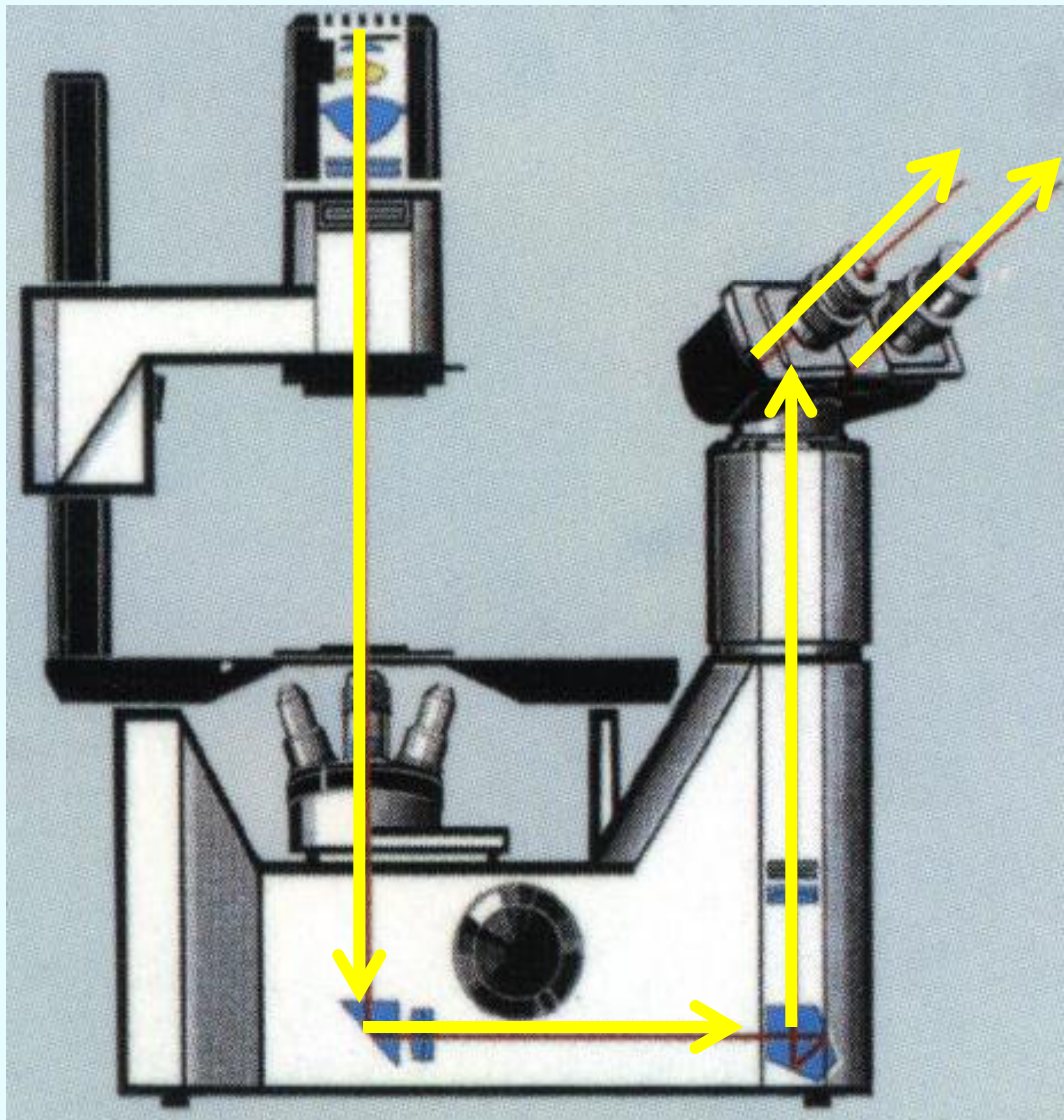
解剖镜

体式镜

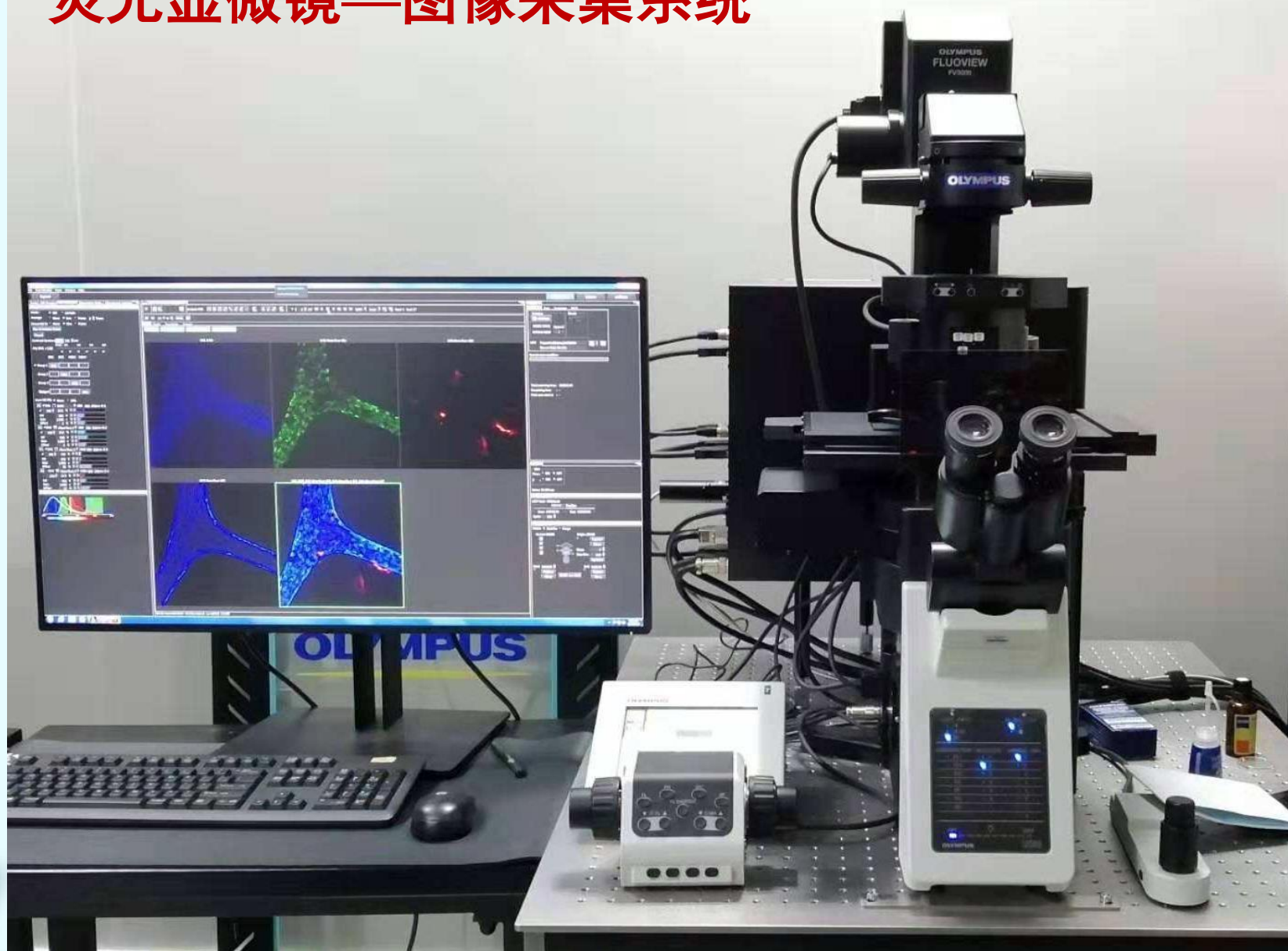
落射式光源

单目显微镜

透射式光源



## 荧光显微镜—图像采集系统



## 二、普通光学显微镜的基本构造



- 机械系统
- 光学系统
- 电子系统（图像记录系统）

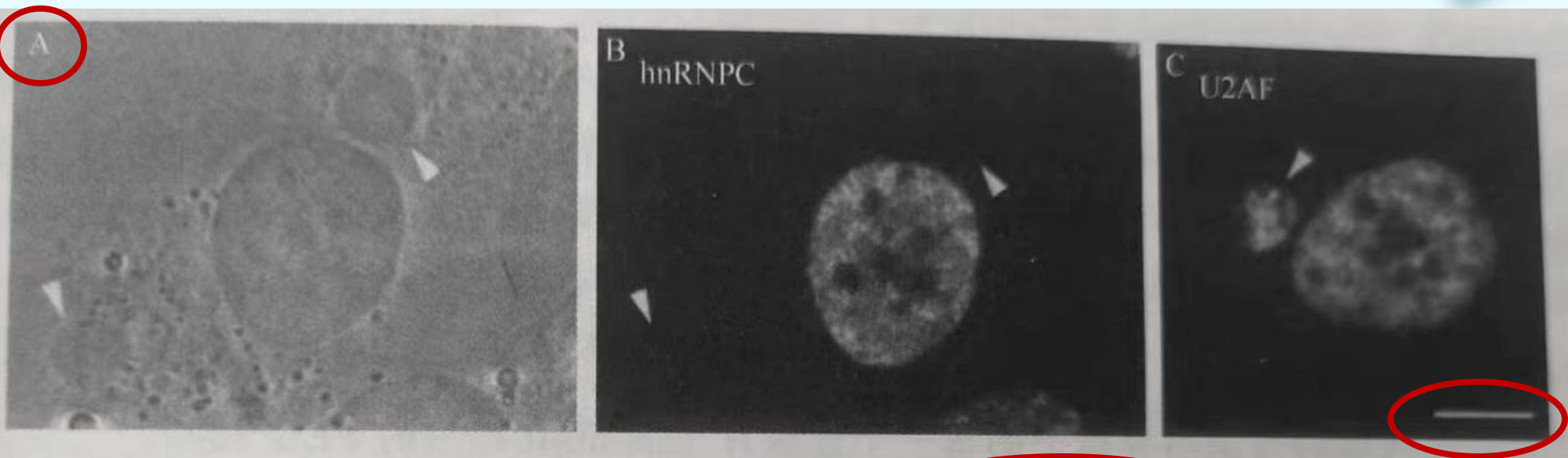
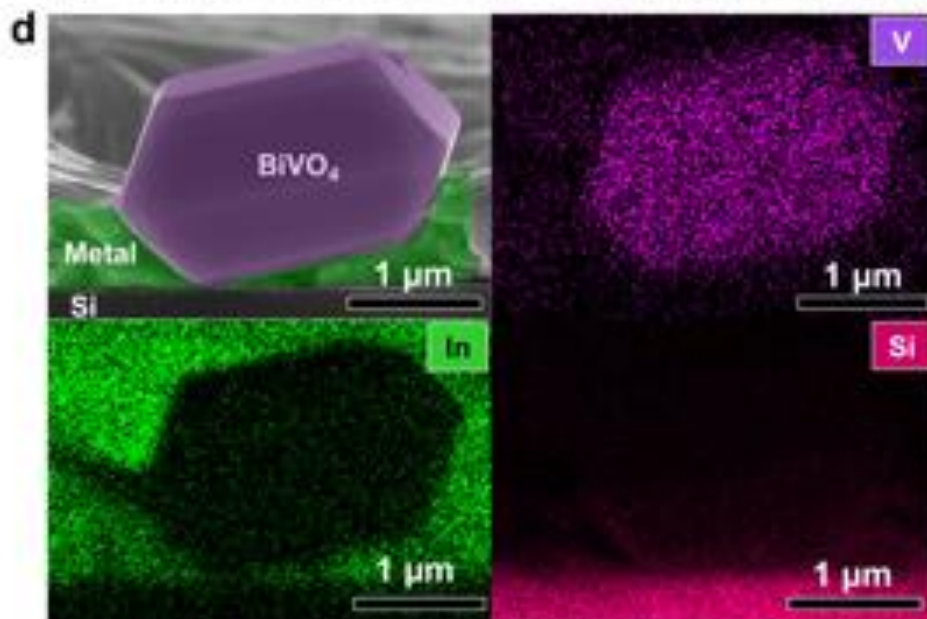
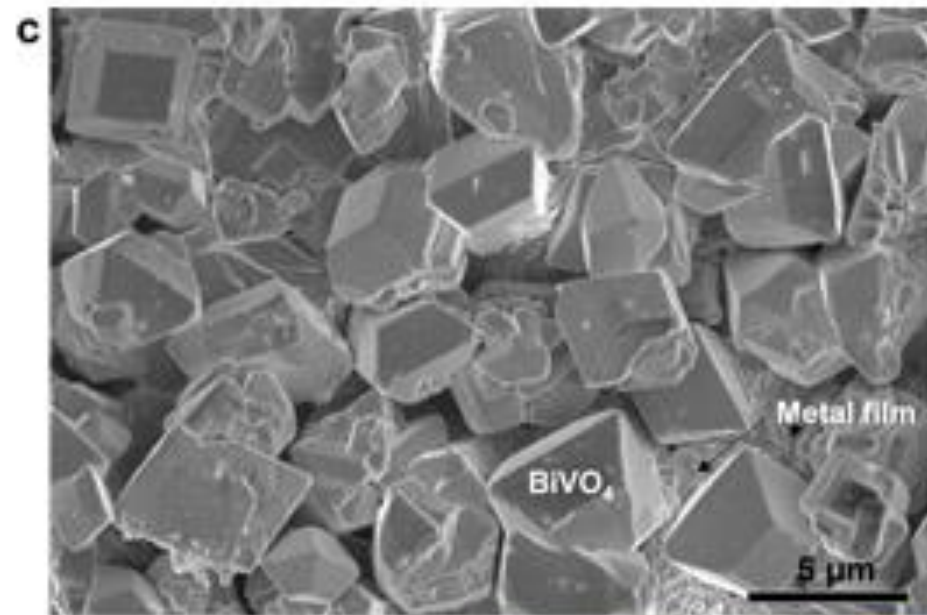
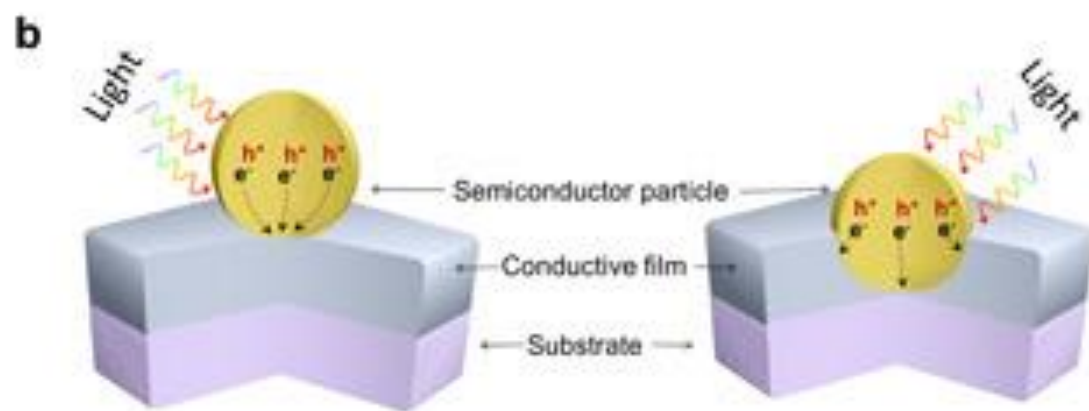
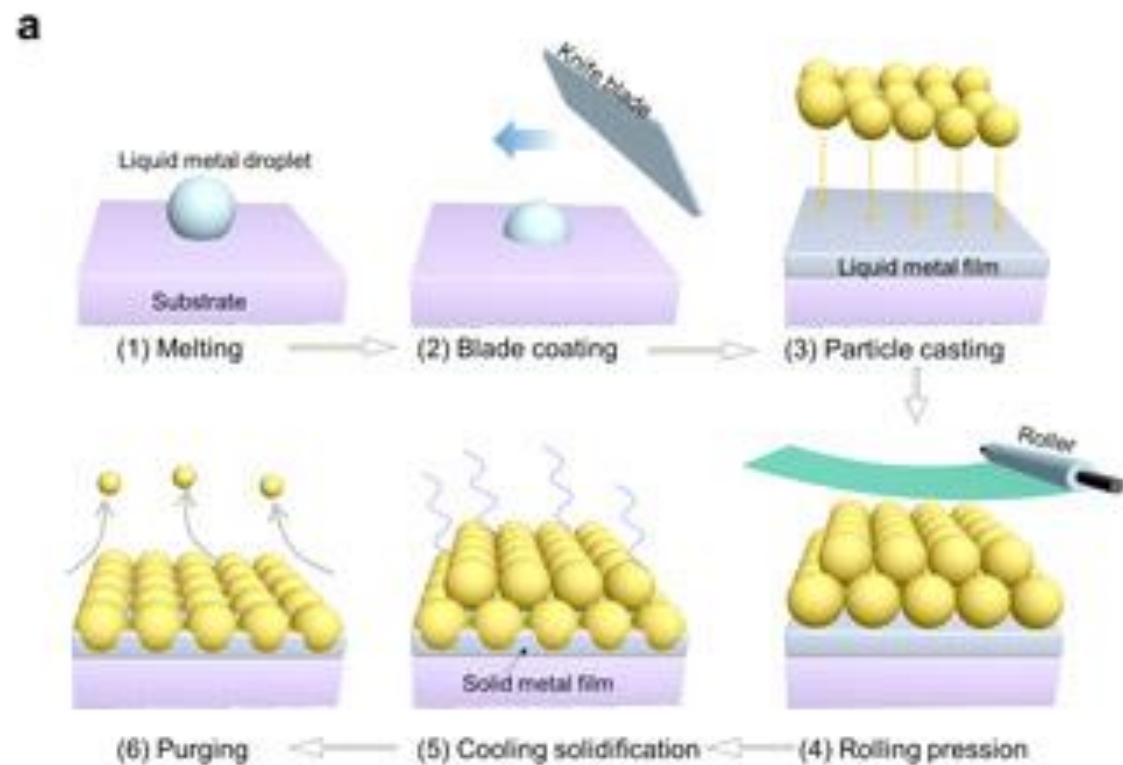
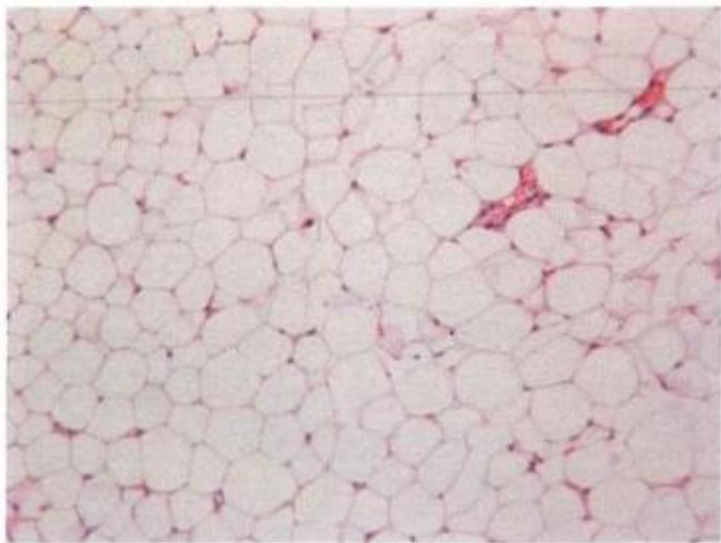


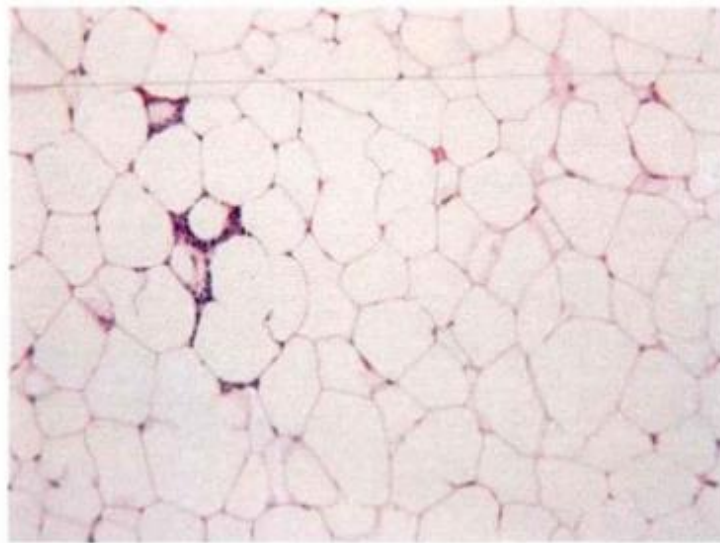
图 5-2 HeLa $\times$ SL2 异核体 (Celis, 2006)

直接抗人类蛋白质的单克隆抗体通常都不能和存在于果蝇中的同源物反应。在这种情况下，外源人类蛋白质的穿梭可以在 HeLa $\times$ SL2 异核体中得到分析。A. HeLa $\times$ SL2 异核体的阶段对照图，箭头标志了来自于 HeLa 细胞质融合的细胞的小 SL2 细胞核；B. 在 A 中显示的异核体被人类非穿梭蛋白质 hnRNPC 的专一性单克隆抗体免疫染色，显示出异核体在蛋白质合成抑制剂（20 $\mu$ g/ml 依米丁）存在的情况下，被限制在 HeLa 细胞核内，箭头指出了 SL2 细胞核的位置；C. 用对人类 U2AF<sup>65</sup> 专一的单克隆抗体对 HeLa $\times$ SL2 异核体进行免疫染色，显示出在 SL2 细胞核（箭头处）内的人类蛋白质，表明这个蛋白质具有穿梭的能力

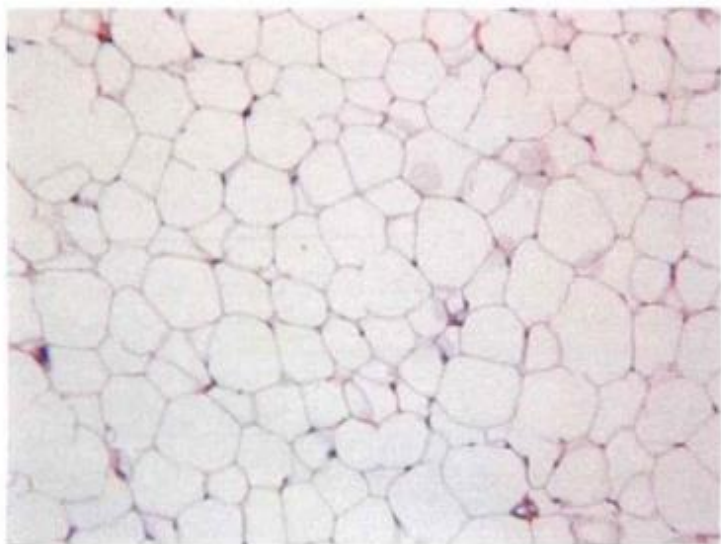




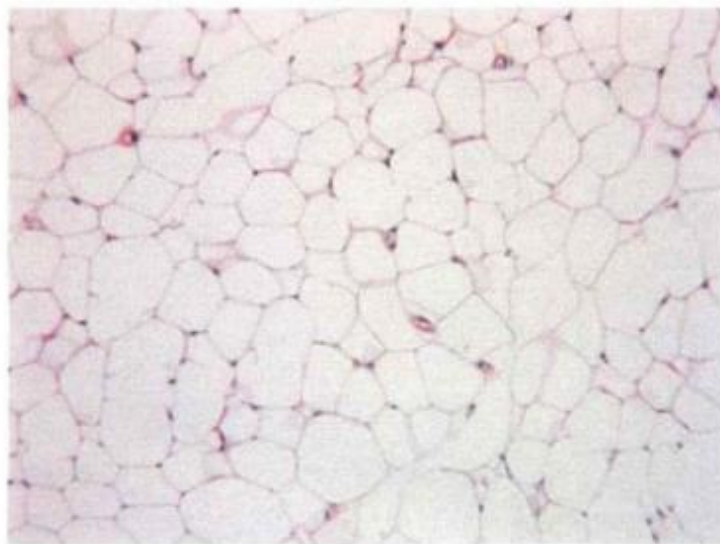
NC



MC



FO



PO

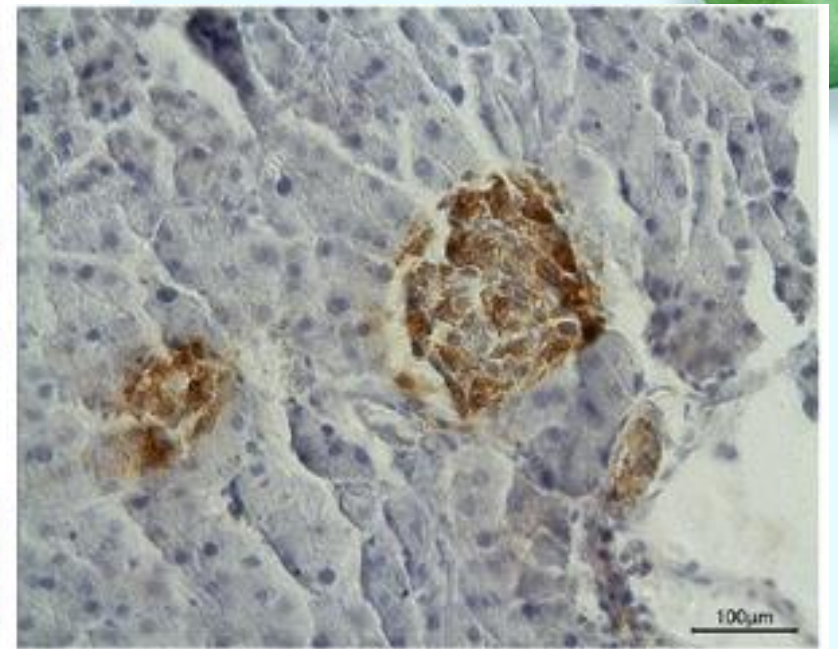
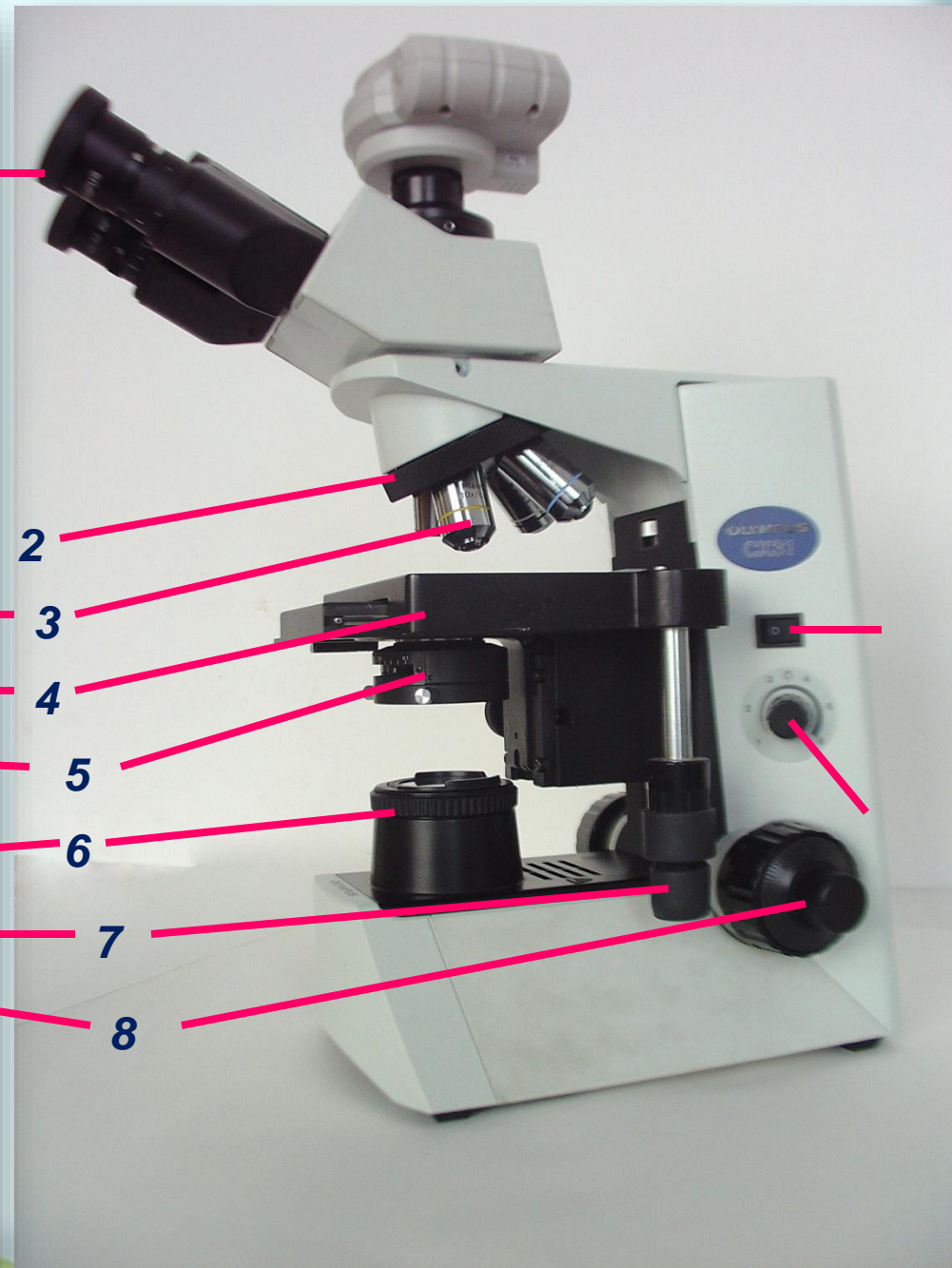
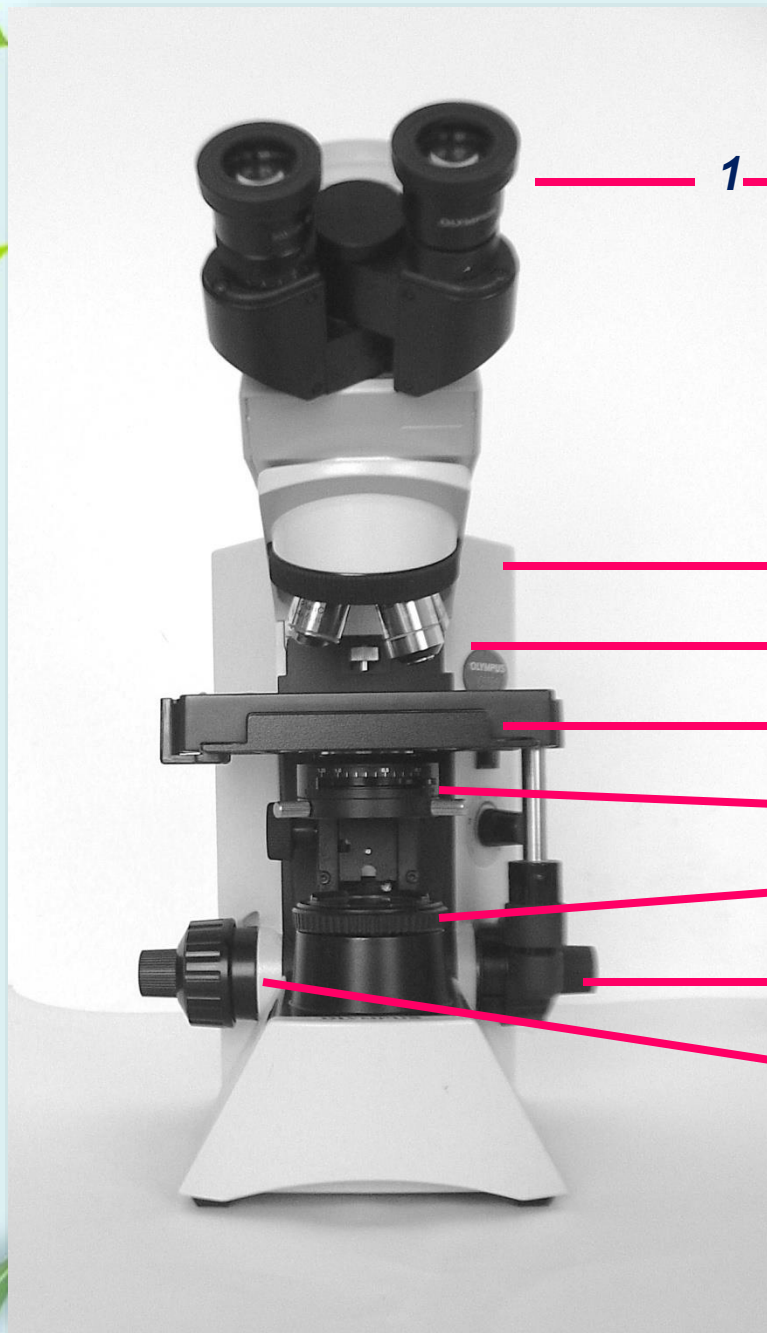


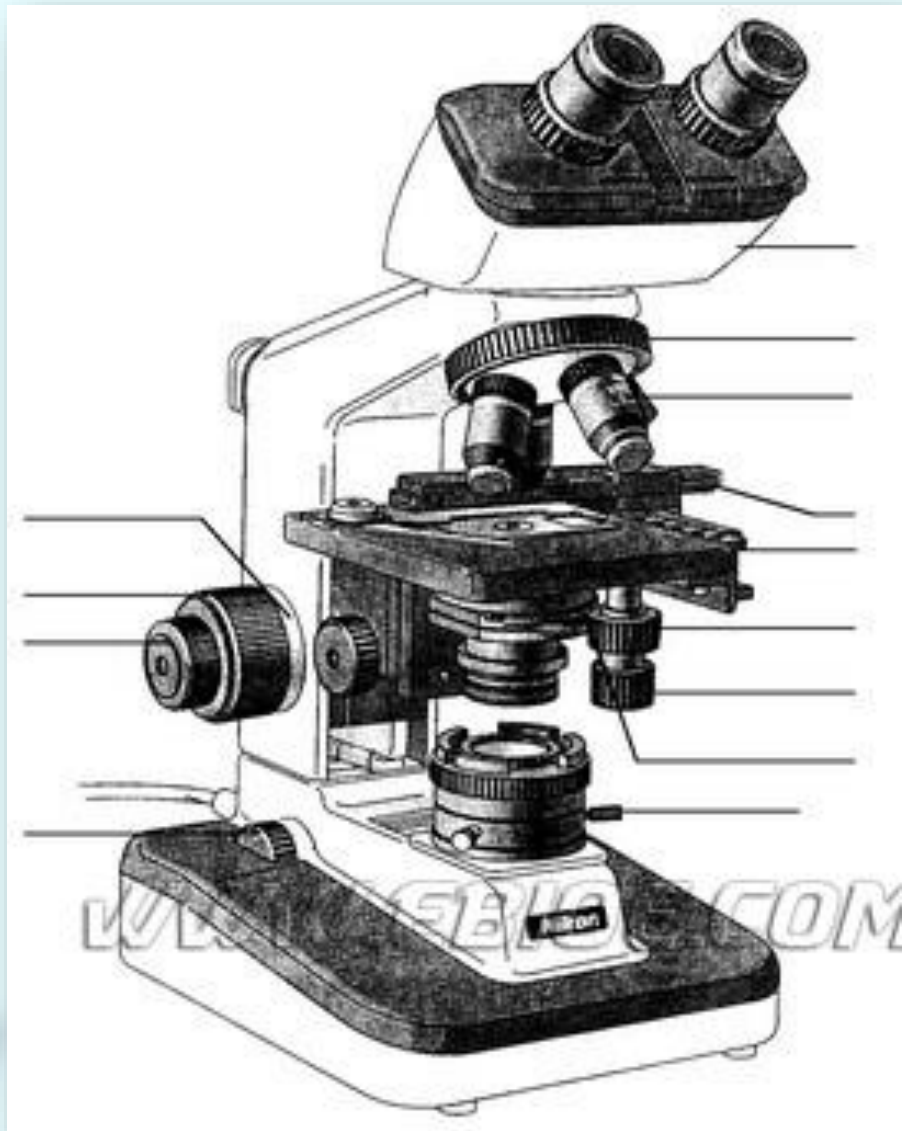
图 2.7 不同来源  $\omega$ -3 PUFA 对高脂饲料喂养 C57BL/6 小鼠白色脂肪组织病理的影响 (200 $\times$ )

注: NC, 正常对照组; MC, 模型对照组; FO, 鱼油组; PO, 紫苏油组。





## 2.1 机械部分



镜座

镜臂

镜筒

活动关节

调焦器

物镜转换器

载物台

载物台旋钮

游标卡尺

## 2.2 光学系统部分

### (1) 照明部分

光源：{ 内光源与外光源  
电源开关、光亮调节旋钮

**视场光阑**：控制照明光束，限定视场

1. 放大倍数的计算?
2. 书写方法:  $\times 200$  或  $10 \times 20$

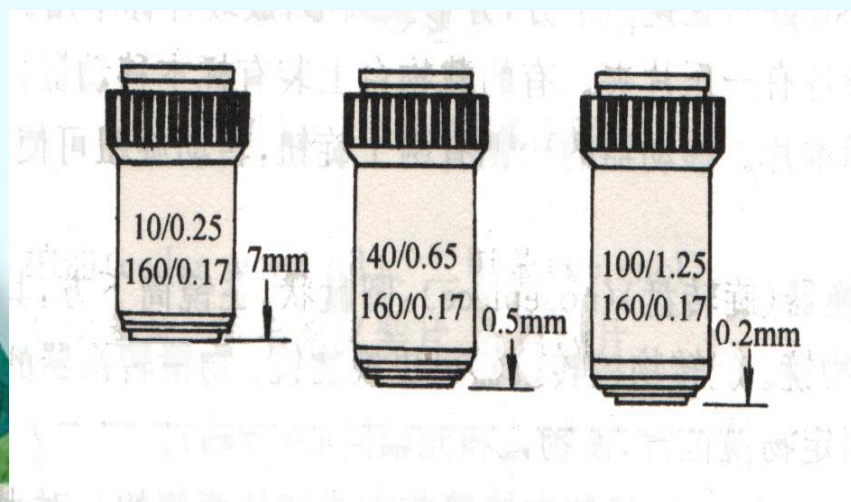
目镜(接目镜) “5 $\times$ ”, “10 $\times$ ” 关节

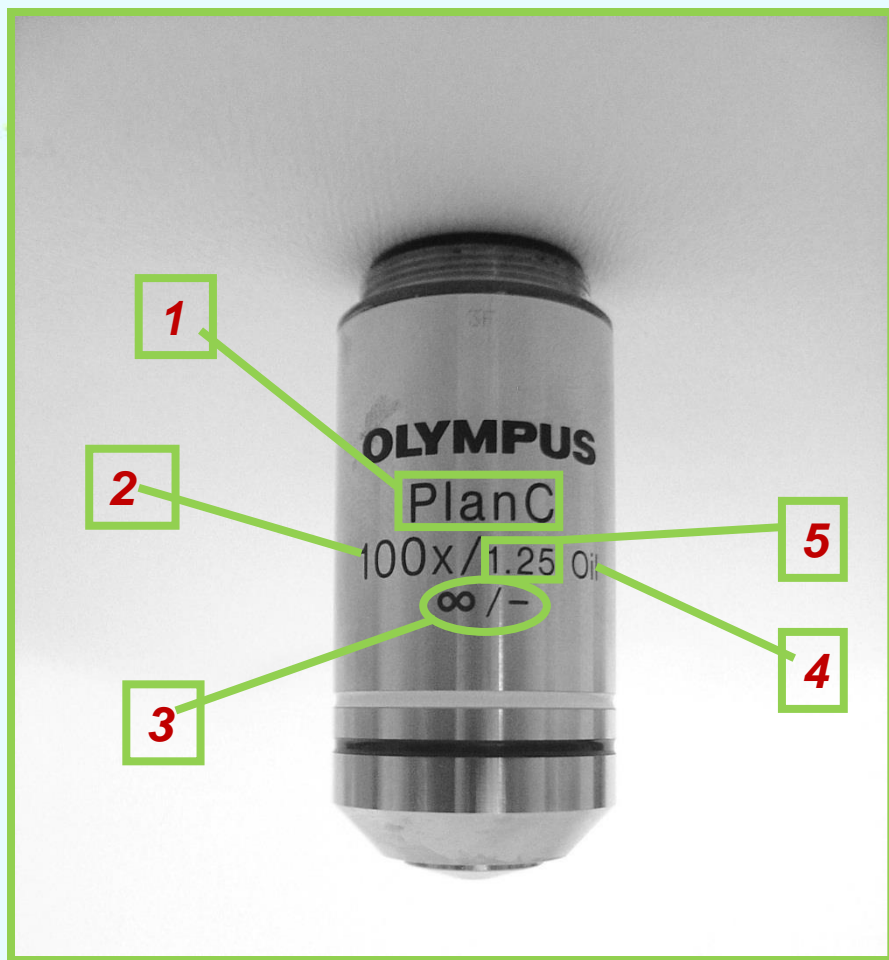
物镜(接物镜)

低倍镜 (1 $\times$ -25 $\times$ ): 0.04-0.40

高倍镜 (25 $\times$ -63 $\times$ ): 0.35-0.95

油镜 (90 $\times$ -100 $\times$ ): 1.25-1.40





1、平场物镜

2、放大倍数

3、机械筒长无限大，盖片有无皆可

4、油浸系物镜

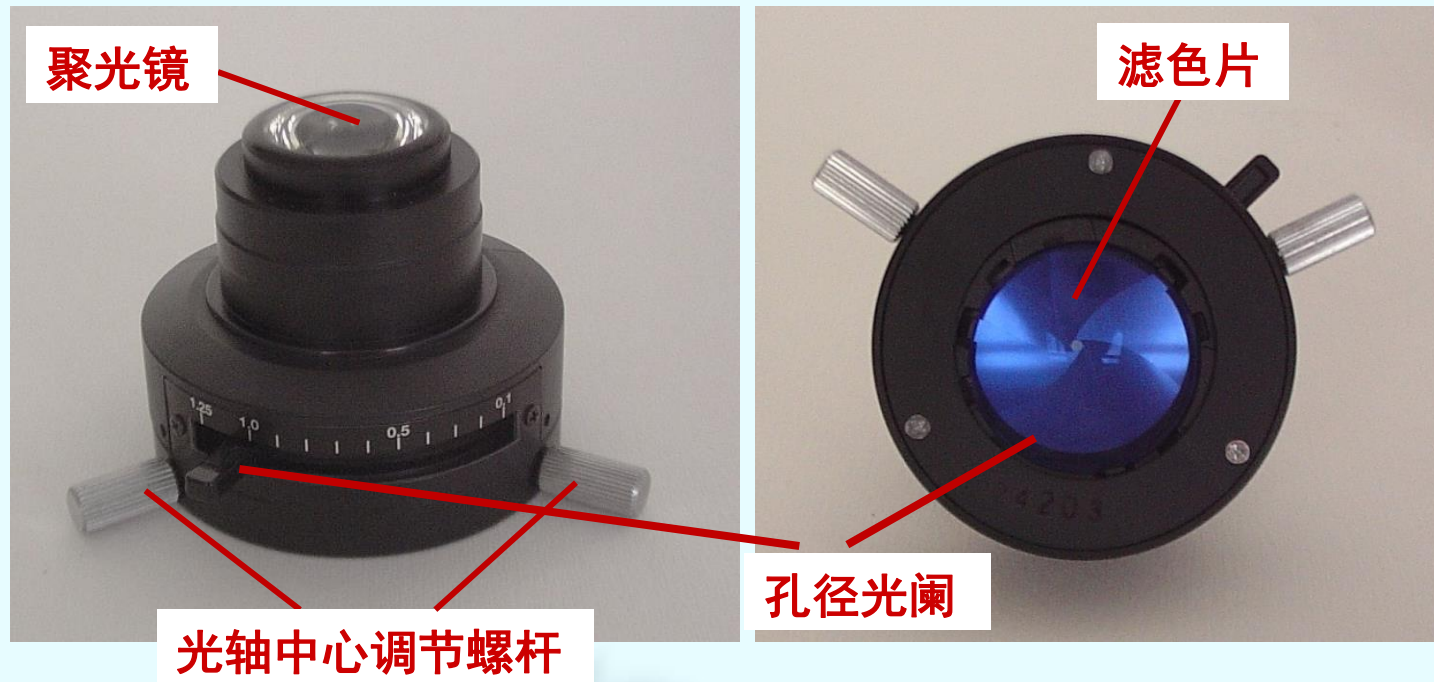
5、数值孔径

根据物镜前透镜与盖玻片之间的介质不同：

- 干燥系物镜：空气
- 水浸系物镜：W, Water
- 油浸系：Oil

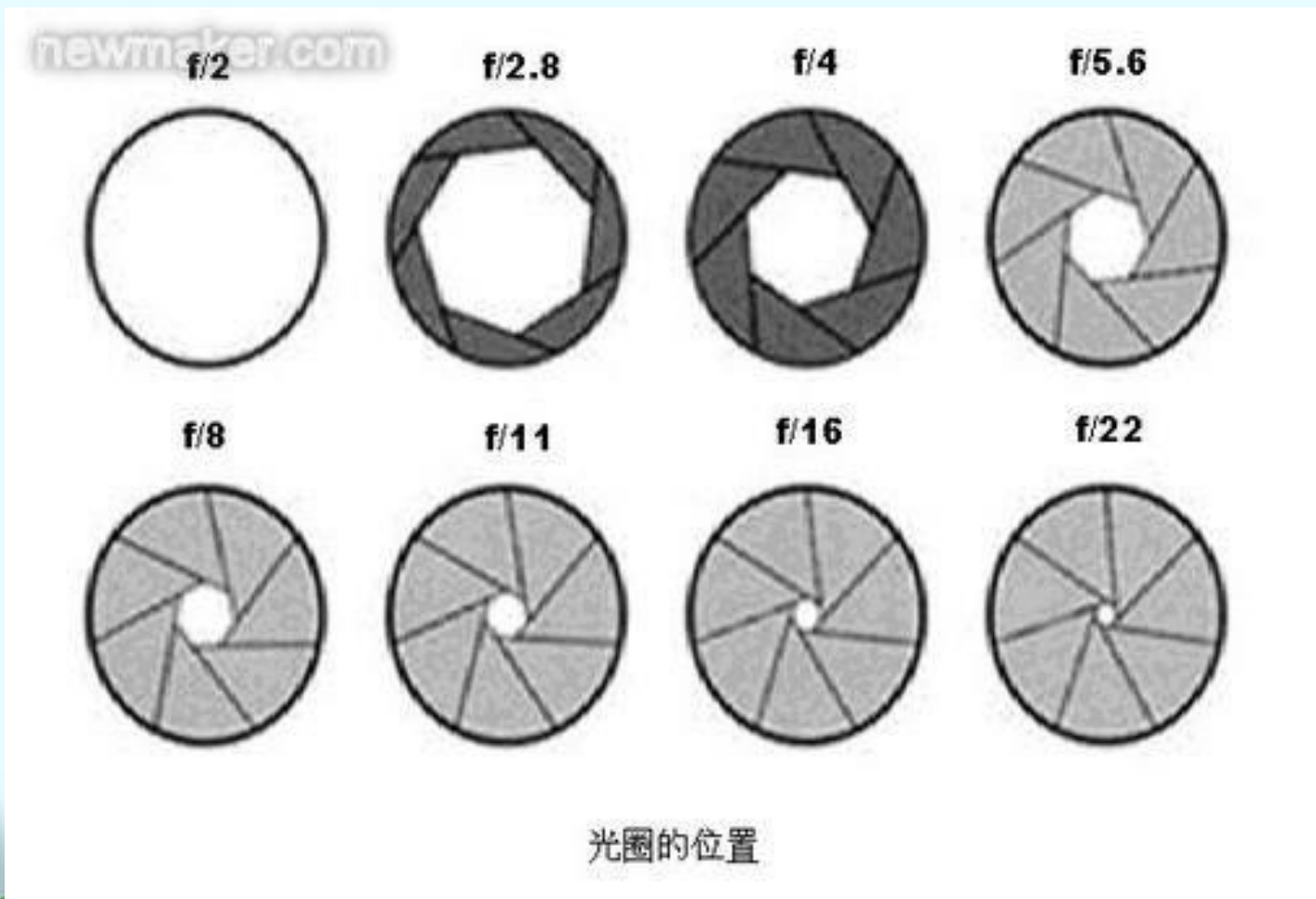
# 聚光器

- 位置、结构
- 作用：将光源光线的焦点落在被检物体上，以得到最强的照明，使物象获得明亮清晰的效果。



聚光器升降旋钮

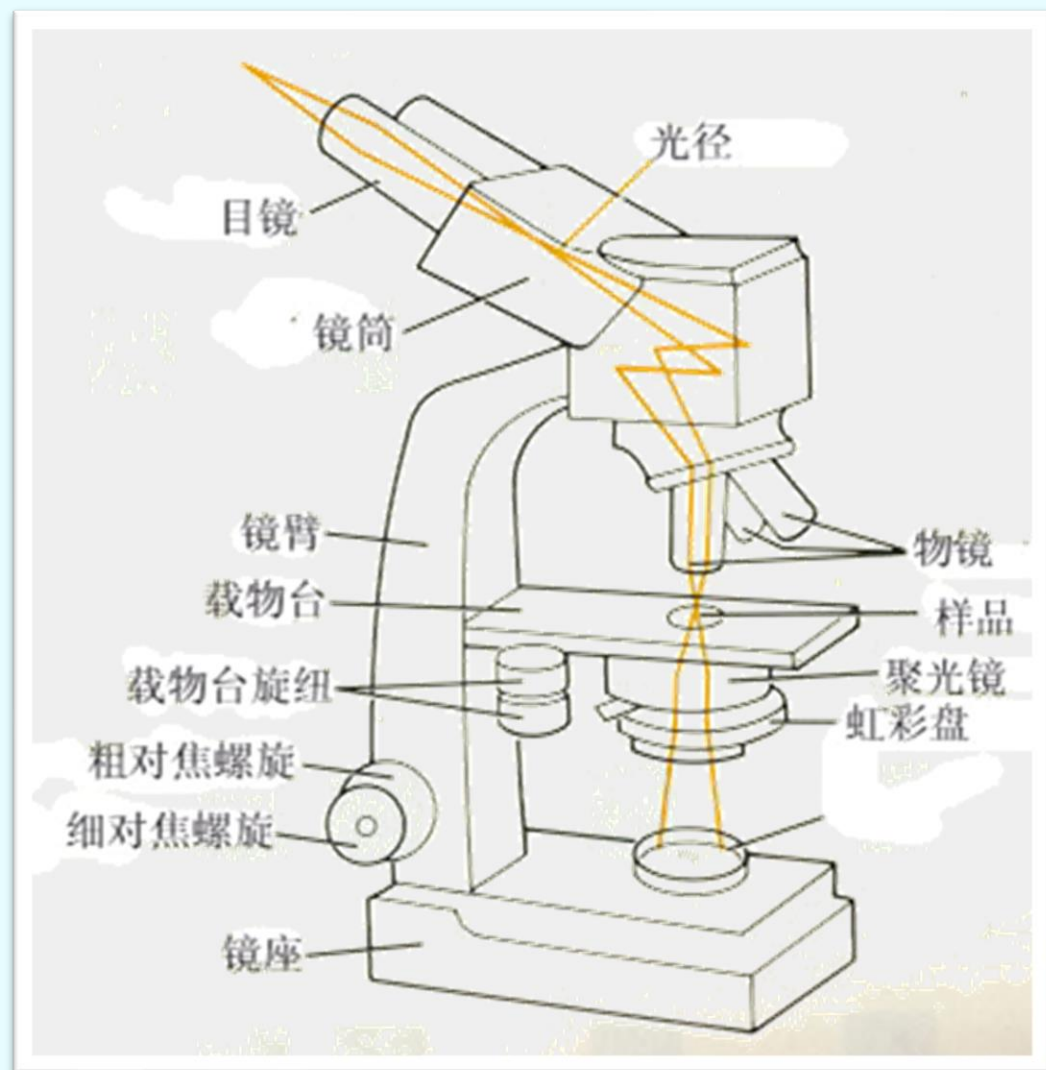
# 孔径光阑，光阑



小时候记忆中的彩虹盘

# 实验操作1 光路合轴

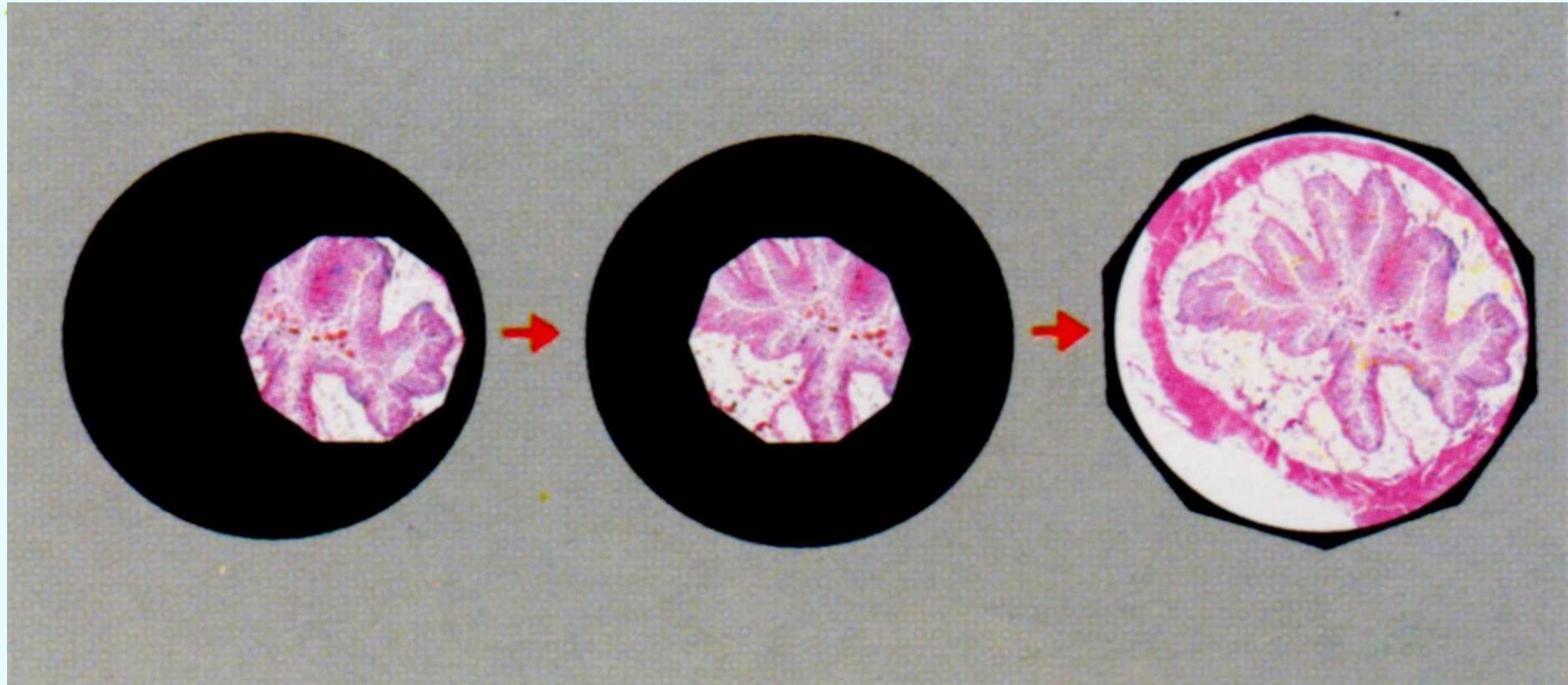
# 光路? + 合轴?



- 显微镜的光路系统中，光源、聚光器、物镜和目镜的光轴**必须处在同一直线上**，达到最佳的观测效果。
- 光路系统中**物镜和目镜**的位置固定无须调整，因此，光路的合轴实为**聚光器和光源灯的调中**。

# 实验步骤

- (1) 打开电源开关，调节光亮度。
- (2) 将**载物台升到最高**，转动聚光器升降旋钮使聚光器升至顶点位置，孔径光阑最大。
- (3) 向右旋转镜座上的视场光阑至最小，可见边缘模糊的视场光阑图象。
- (4) 微降聚光器，至视野光阑的图象清晰聚焦为止。
- (5) 用聚光器的两个调中螺杆推动聚光器，使缩小的视场光阑图像调至视场中央。
- (6) 开放视场光阑，使多边形的周边与视场边缘相接。若不相接可反复调试几次
- (7) 将聚光器恢复到最高位置。



## 实验操作2. 人口腔上皮细胞的观察

实验对象：人+口腔+上皮细胞

- (1) 在一张干净的载玻片上滴一滴清水。
- (2) 清水漱口后，用牙签在口腔内侧轻轻刮几下。
- (3) 将蘸有口腔上皮的牙签在清水中涮几下，涂匀。
- (4) 干片后，显微镜观察。

注意：轻轻刮取样本。  
涂抹面积不要过大。  
可不盖盖玻片。

**孔径光阑建议调至最小**

## 附：显微镜的标准操作

- **镜检任何标本：聚光镜升至最高，视场光阑最大、孔径光阑最大、低倍镜观察、载物台降至最低。**

(1) 升高镜筒，把玻片标本放在载物台中央，标本材料正对通光孔的中心，用压片夹压住载玻片的两端。

(2) 调焦：两眼从侧面注视物镜，转动粗准焦螺旋，让镜筒徐徐下降，至物镜距玻片2-5 mm处。然后用双眼同时观察，用右手反方向（逆时针方向）转动粗准焦螺旋，使镜筒缓缓上升，直到看清物像为止。如果不够清楚，可用细准焦螺旋调节。

(3) 低倍镜的观察：由所用的目镜放大倍数与物镜放大倍数相乘，即为原物被放大的倍数。如果物像不在视野中央，要慢慢移动到视野中央，适当再进行调节。



- 高倍镜的使用

(1) **选好目标** 先用低倍物镜确定要观察的目标，将其移至视野中央。转动转换器，把低倍物镜轻轻移开，原位置小心换上高倍物镜。（用高倍物镜工作距离较短，操作要十分仔细，以防镜头碰击玻片）。

(2) **调焦** 在正常情况下，当高倍物镜转正之后，在视野中央即可见到模糊的物像，只要向反时针方向略微调动细准焦螺旋，既可获得清晰的物像。

在换上高倍物镜观察时，视野变小变暗，要重新调节视野亮度，可升高聚光器调亮光源。



## 今日操作：

1. 掌握普通光学显微镜结构功能
2. 光路合轴
3. 人口腔上皮细胞观察

## 作业：

1. 绘10倍或40倍镜视野中人口腔上皮细胞。

要求：标准的生物绘图

# 生物绘图示例

这个圈圈代  
表视野

结构用点构图，  
密集或者疏散的  
点

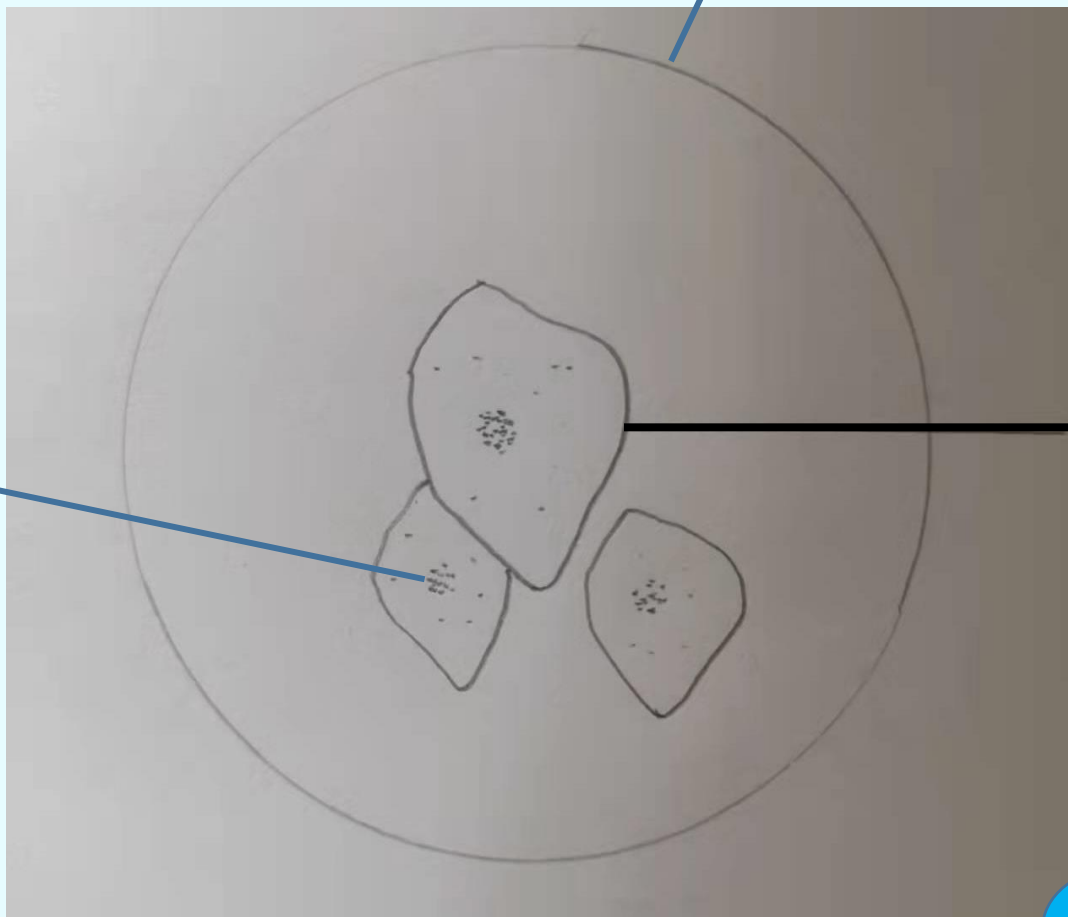
右侧为主，  
指出本图的  
中心人物

人口腔上皮细胞

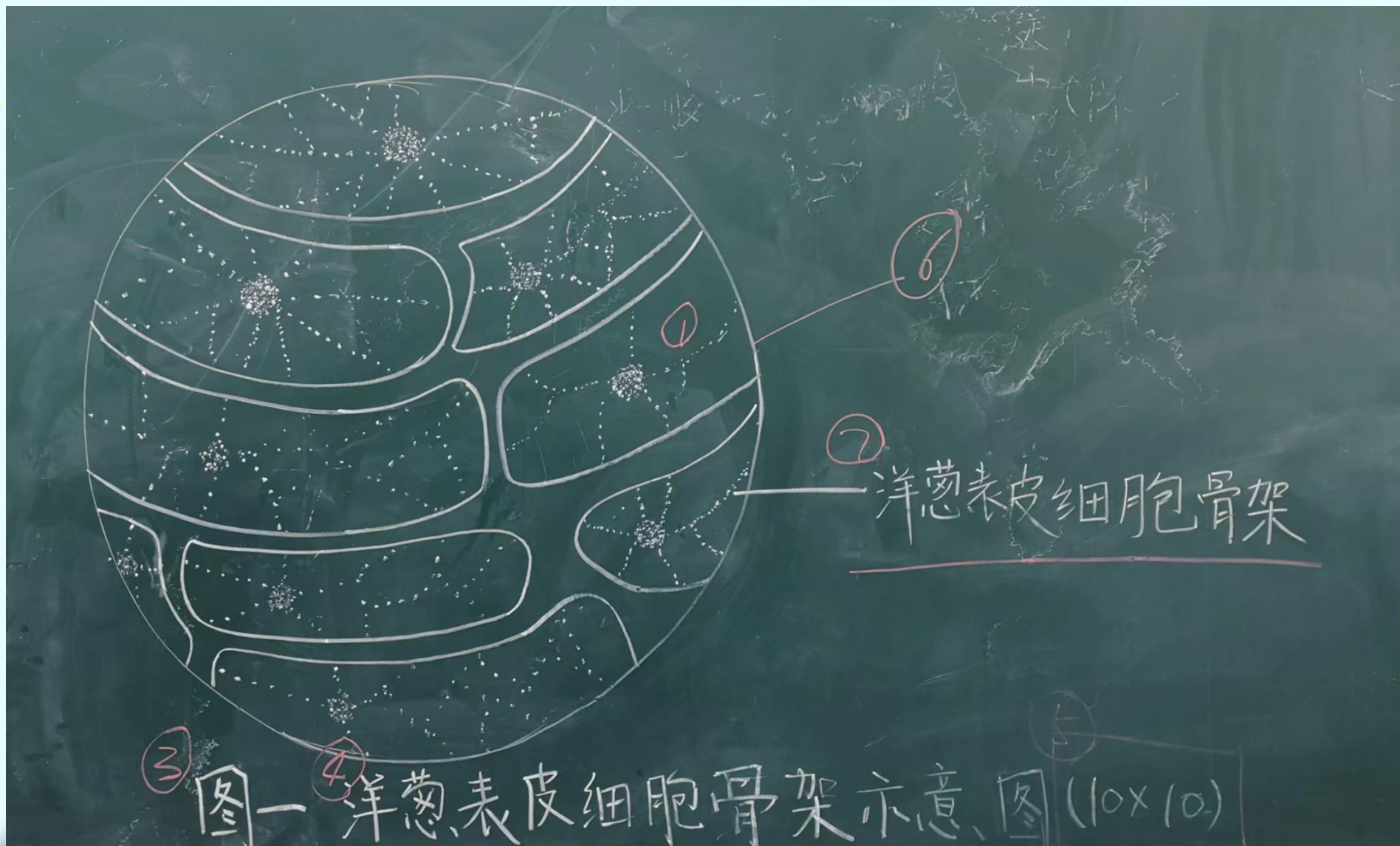
图题+放大倍数  
与图片是上下  
结构

图1 人口腔上皮细胞示意图 ( $10\times 40$ )

图1 人口腔上皮细胞示意图 ( $400\times$ )



附



③ 图一 ④ 洋葱表皮细胞骨架示意图 (10x10) ⑤