

细胞生物学实验

郭滨 binguo@fudan.edu.cn





实验安排

周	时间	实验内容
1	/	/
2	3.11-3.17	清点物品, 实验准备 实验1普通光学显微镜的基本使用方法 相差、干涉差、暗视野显微镜的基本使用方法
3	3.18-3.24	实验2细胞化学 Feulgen 染色
4	3.25-3.26	实验3 植物细胞分化
5	3.27-3.31	实验4细胞器的分离、纯化和鉴定1 叶绿体的密度梯度离心与荧光观察
6	4.1-4.7	清明节停课
7	4.8-4.14	实验5动物细胞培养(鼠肾)
7	4.15-4.21	实验6哺乳动物离体贴壁细胞的传代培养
8	4.22-4.28	实验7细胞转染
9	4.29-5.5	实验8细胞骨架实验
10	5.6-5.12	实验9细胞器的分离、纯化和鉴定2 差速离心法分离线粒体
11	5.13-5.19	实验10流式细胞仪
12	5.20-5.26	清点物品

5/03/2019



课堂要求

- 1、不得迟到早退，有事提前请假，离开实验室跟助教打招呼
- 2、穿实验服
- 3、教室内严禁吃东西
- 4、爱护实验器材
- 5、保持台面整洁
- 6、垃圾分类
- 7、团队协作





相差、暗室野和荧光显微镜的基本使用方法





实验目的

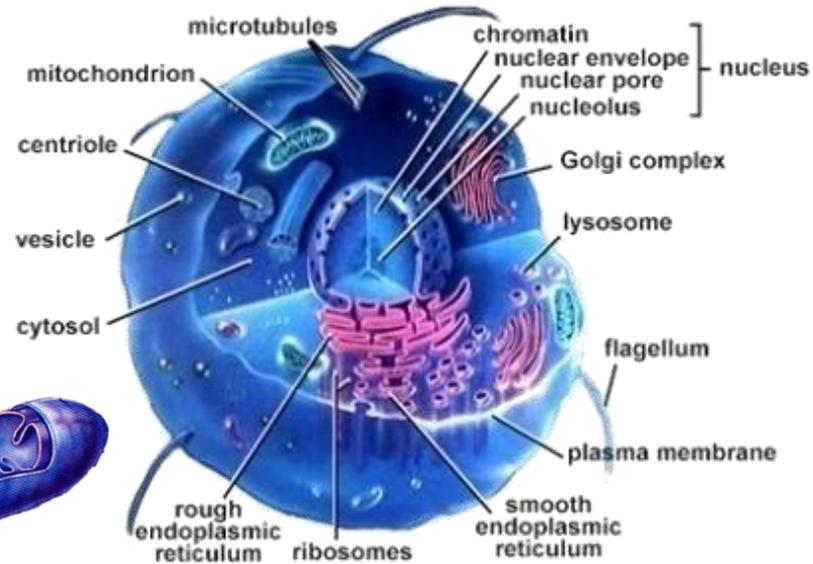
- 1、了解光学显微镜的基本成像原理
- 2、掌握相差显微镜的原理和基本使用方法
- 3、了解暗视野显微镜的成像原理和使用方法
- 4、学习荧光显微镜的成像原理和基本操作





背景知识

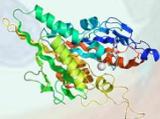
显微镜的级别划分



Mitochondrion



Microtubule

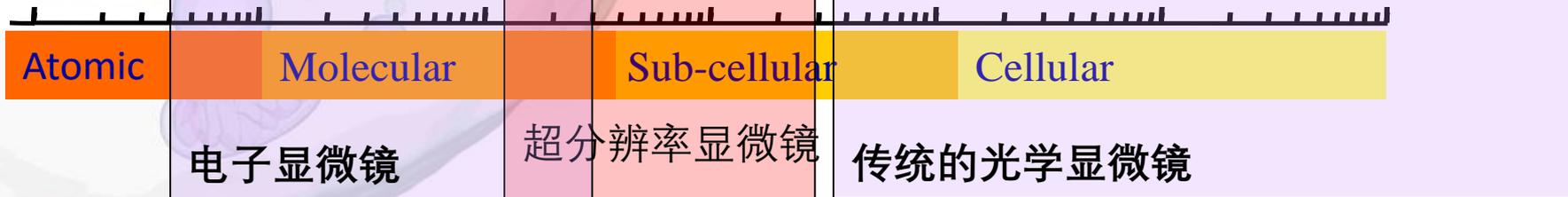


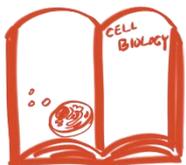
Kinesin



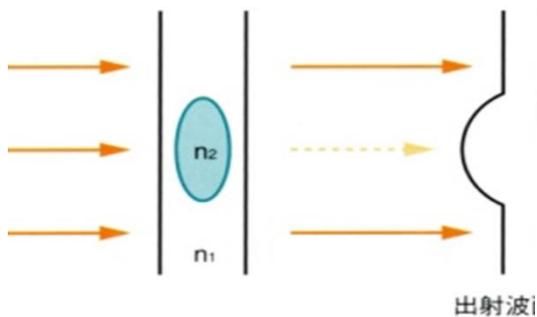
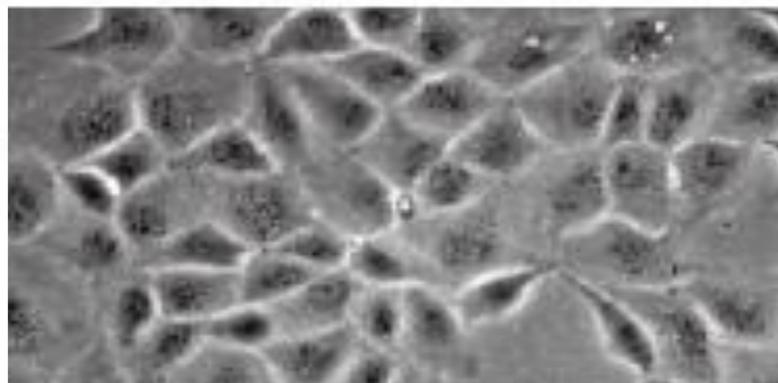
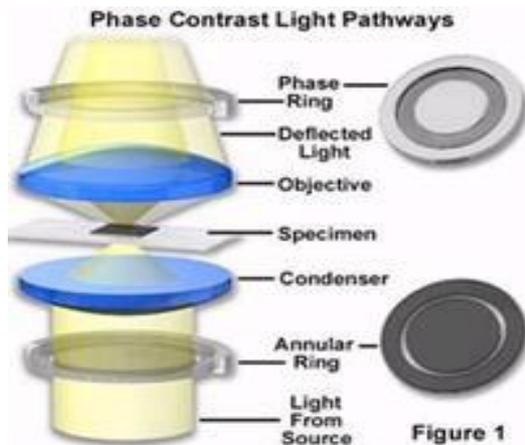
Amino Acid

1Å

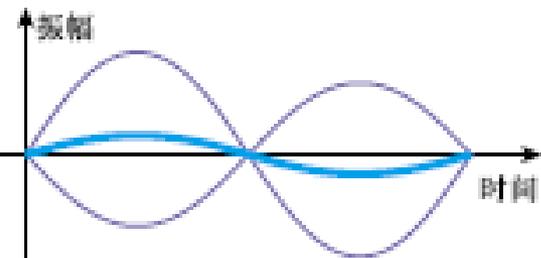
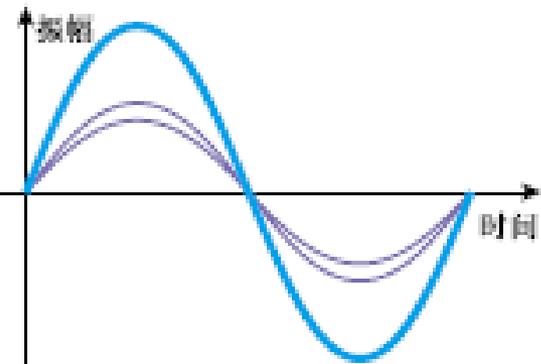




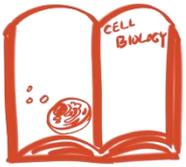
相差显微镜



$$n_2 \geq n_1 \quad (n_1, n_2: \text{屈折率})$$

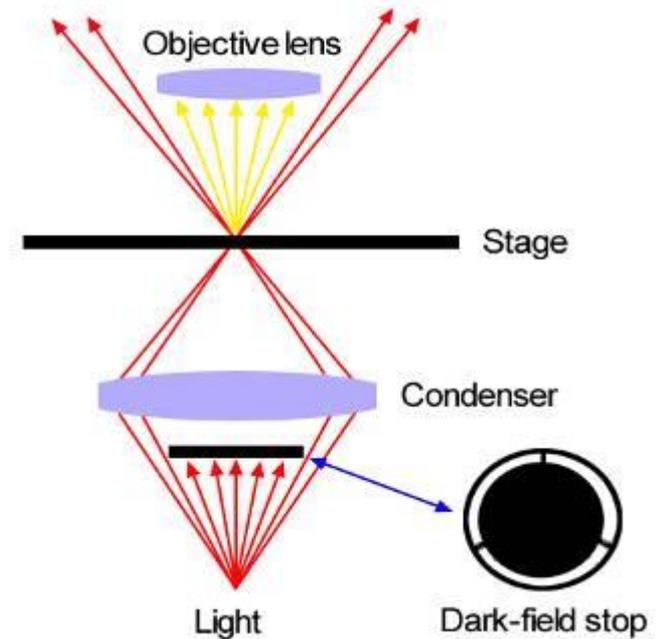


— 初始光束
— 干涉光



暗视野显微镜 dark field microscope

- ◆ 根据丁达尔效应原理设计的一种在黑色背景条件下观察被检物体的显微镜。
- ◆ 聚光镜中央有挡光片，照明光线不直接进入物镜，只允许被标本反射和衍射的光线进入物镜，因而视野背景是黑的，物体边缘是亮的。
- ◆ 可观察 4~200nm 的微粒子，分辨率比普通显微镜高 50 倍。



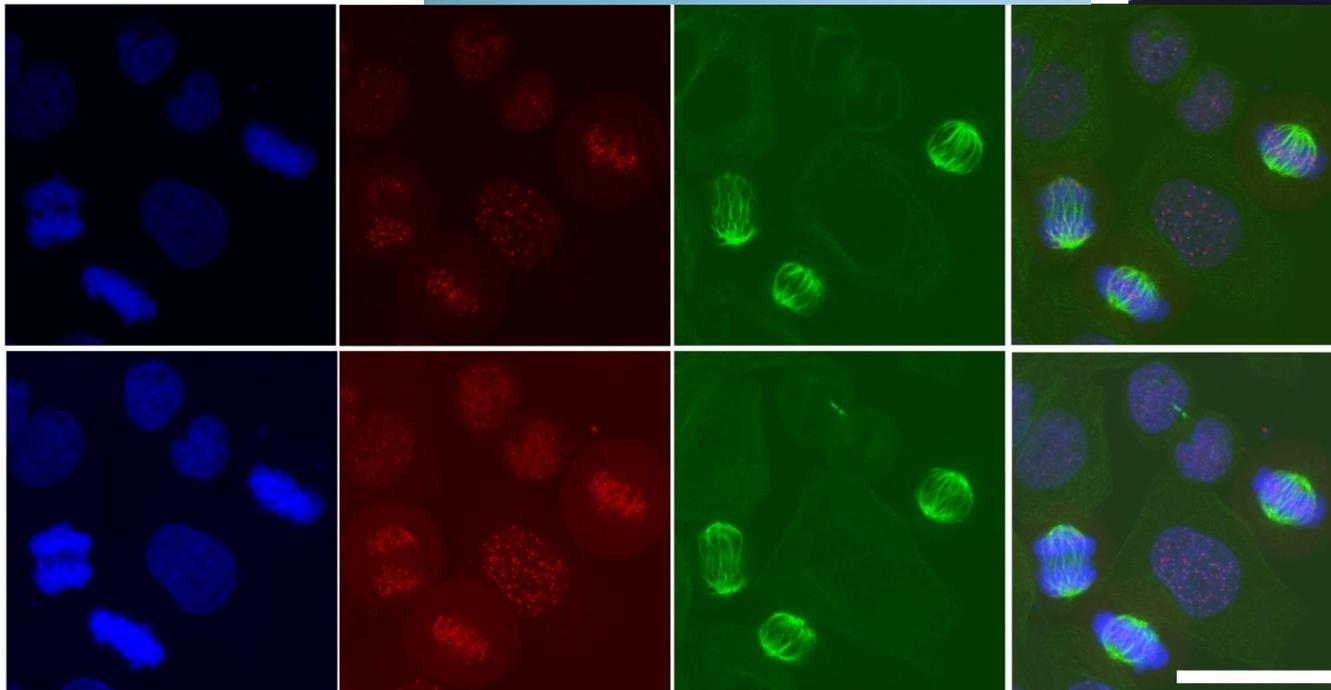


荧光显微镜 Fluorescence microscope



特点：
暗背景、强反差





single layer image

Z-stacked image





实验材料

洋葱

酵母细胞

刚毛藻

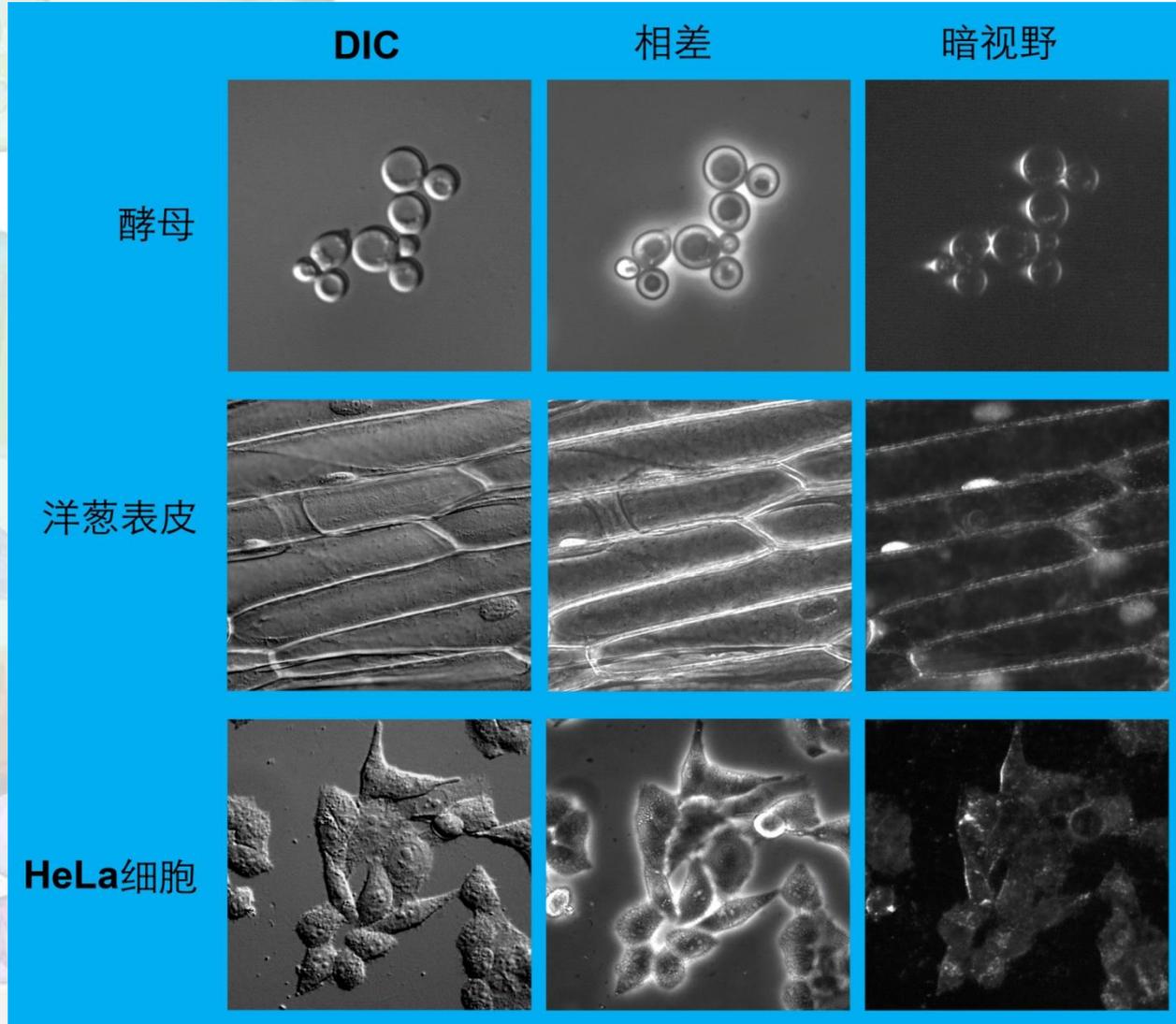


实验内容

- 1、取新鲜洋葱鳞状叶内表皮约 1cm^2 或更小，放在干净的载玻片上，加一小滴水，将盖玻片倾斜盖上，并注意不出现气泡，即制成水封片。
- 2、取一块黑纸，把它剪成暗视野显微镜用的遮光板，并放入普通光学显微镜的聚光器下的光阑上，制成暗视野显微镜。（须反复调整遮光板的尺寸以得到最佳效果）。
- 3、把制成的水封片放在暗视野显微镜下用10倍物镜观察，可以看到在明亮的细胞壁与半透明的细胞核之间有很多极小而明亮的“质点”或颗粒，仔细观察，可以看出这些正作有向的运动（速度很慢），水封片中多加些水会促进这种运动。
- 4、学习相差显微镜，荧光显微镜和倒置显微镜的使用方法和有关操作技术。
- 5、取酵母悬液制作临时装片，比较普通光学显微镜和相差显微镜下不同的观察效果
- 6、制作刚毛藻临时装片，光学显微镜和荧光显微镜下观察



讨论





思考题

1、从对不同材料的观察效果中，分析相差显微镜、微分干涉差显微镜和暗视野显微镜各适用于观察什么样的材料？

2、为何用显微镜观察样本时需加盖玻片？

谢谢！

