



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

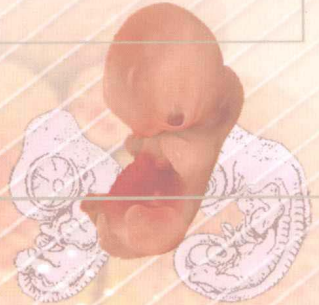
DongWuZuZhiXueYuPeiTaiXue

动物组织学与胚胎学

动物医学、动物科学及淡水养殖专业用

(双语试用教材)

○ 杨倩 主编



中国农业大学出版社

ZHONGGUONONGYEDAXUE CHUBANSHE

图书在版编目(CIP)数据

动物组织学与胚胎学/杨倩主编. —北京:中国农业大学出版社,2008.2

ISBN 978-7-81117-419-9

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

I. 动… II. 杨… III. 动物学:组织学(生物):胚胎学 IV. Q954.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 008515 号

书 名 动物组织学与胚胎学

作 者 杨 倩 主 编

策划编辑 潘晓丽

责任编辑 冯雪梅

封面设计 郑 川

责任校对 陈 莹 王晓凤

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路 2 号

邮政编码 100094

电 话 发行部 010-62731190,2620

读者服务部 010-62732336

编辑部 010-62732617,2618

出 版 部 010-62733440

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

e-mail cbsszs@cau.edu.cn

经 销 新华书店

印 刷 涿州市星河印刷有限公司

版 次 2008 年 2 月第 1 版 2008 年 2 月第 1 次印刷

规 格 787×980 16 开本 26.5 印张 487 千字

印 数 1~4 000

定 价 36.00 元

图书如有质量问题本社发行部负责调换

主 编 杨 倩

副主编 李五谷

编 者 (按姓氏笔画排列)

毛卫华(南京农业大学)

王 珏(安徽科技学院)

王树迎(山东农业大学)

王政富(佛山科技学院)

石 娇(沈阳农业大学)

李五谷(华南农业大学)

杨 倩(南京农业大学)

张登荣(河北工程大学)

房慧伶(广西大学)

胡 满(河北农业大学)

徐向明(扬州大学)

殷 俊(扬州大学)

崔亚利(河北农业大学)

黄丽波(山东农业大学)

审 稿 秦鹏春(东北农业大学)

内 容 提 要

本书共 20 章。内容主要包括三大部分。第一部分是细胞学概论,主要阐述细胞的超微结构和功能。第二部分是动物组织学(基本组织学和器官组织学),包括上皮组织、固有结缔组织、软骨和骨组织、血液、肌肉组织、神经组织、神经系统、循环系统、免疫系统、内分泌系统、消化管、消化腺、呼吸系统、泌尿系统、雌性生殖系统、雄性生殖系统、被皮系统和感觉器官,主要叙述动物组织和器官微细结构及其功能。第三部分是动物胚胎学,主要论述动物胚胎的早期发生和发育,包括生殖细胞、受精、卵裂、早期胚胎发育等过程。

本书可供农林院校动物医学(兽医)、动物科学(畜牧)、水产养殖专业的本科生作为教材使用。亦可为综合性大学动物专业和有关专业的研究生、教师及研究人员参考。

前 言

在中国农业大学出版社和各方的大力支持下,《动物组织学与胚胎学》作为普通高等教育“十一五”国家级规划教材付梓发行了。这部教材的编写着眼于农业高校教育教学改革的新要求,为更好地推进动物医学、动物科学及水产养殖等学科专业的教学和发展,力求强化学生创新意识和创新能力的培养,进行了较为大胆的改革创新尝试,主要体现在教学内容的扩展和适应双语教学要求等方面。

淡水鱼类的组织胚胎学教材一直是困扰农业院校部分专业开展相关教学工作的难题之一。鉴于此,本教材首次将鱼类组织学的主要内容纳入其中,使教材内容涵盖了哺乳动物、家禽和淡水鱼类等。较为全面的内容不但能满足高等农业院校动物医学、动物科学、淡水养殖及生命科学等专业的教学需要,还适合作为本学科的科研人员和研究生的基础参考资料。

双语教学作为新时期高等教育教学改革的发展方向之一,其关键的环节是编写合适的教材。为尽快实现双语教学并达到预期效果,目前许多学校采取了直接引进国外原版教材的做法,或者自主编写中英文对照教材。本教材则首次采用以增加英文概要的方法作为逐渐与国外教学接轨的过渡形式。一方面有利于学生在教学过程中有所参照,逐步适应;另一方面可使教材的篇幅不至于过长。在章节内容的布局上,先安排内容摘要以便于总揽要点和课后复习,每章最后则有与摘要相对应的英文小结。

教材选图考究,精选并引用了国内外一些新出版的教材和图谱中的图片和真实照片,并手工绘制一部分线条图,图片和照片典型、准确、清晰,有利于帮助广大同学更好更快地学习、理解和掌握教学内容。

本书的编写分工如下:房慧伶(绪论、第1章)、王珏(第2章、第11章、第18章)、石娇(第3章、第6章)、崔亚利(第5章、第19章)、胡满(第7章)、李玉谷(第8章、第9章)、杨倩(第4章、第10章)、王树迎(第12章)、黄丽波(第13章)、张登荣(第14章)、毛卫华(第15章)、王政富(第16章、第17章)、徐向明和殷俊(第20章),此外,杨倩还完成了第1章、第2章、第4章、第5章、第11章、第18章的中英文摘要,以及第16章、第17章淡水鱼部分的编写工作。

本教材的编写工作凝聚了全体编写老师的心血和汗水。除文字编写工作外,南京农业大学毛卫华和陈晓娟老师完成了大部分的线条图的绘制工作;南京农业

大学外国语学院侯广旭教授对英文摘要部分进行了审阅；副主编华南农业大学李玉谷教授对教材的格式、内容和文字精心做了统一规范；东北农业大学秦鹏春教授承担了最后的审稿工作。在此表示衷心感谢。

本教材全体编委于 2007 年 10 月 18~20 日在中国农业大学出版社召开了定稿会议。在此感谢中国农业大学出版社的鼎力支持和帮助。

主 编

2007 年 11 月

目 录

绪论	(1)
一、动物组织学与胚胎学的研究内容及意义	(1)
二、动物组织学与胚胎学的研究方法	(2)
三、学习动物组织学与胚胎学的方法及应注意的一些问题	(12)
第 1 章 细胞	(15)
一、细胞的结构与功能	(16)
二、细胞增殖	(36)
三、细胞分化	(38)
四、细胞衰老与死亡	(40)
第 2 章 上皮组织	(44)
一、被覆上皮	(45)
二、腺上皮与腺	(55)
三、上皮组织的更新与再生	(59)
第 3 章 固有结缔组织	(61)
一、疏松结缔组织	(62)
二、致密结缔组织	(68)
三、脂肪组织	(69)
四、网状组织	(71)
第 4 章 软骨与骨	(73)
一、软骨	(74)
二、骨	(76)
三、鱼类骨组织和软骨组织的特点	(79)
四、骨的发生	(79)
第 5 章 血液	(85)
一、血细胞	(86)
二、血细胞的发生	(93)
第 6 章 肌组织	(96)
一、骨骼肌	(97)

二、心肌	(102)
三、平滑肌	(105)
第 7 章 神经组织	(108)
一、神经元	(109)
二、神经纤维	(114)
三、神经末梢	(117)
四、神经胶质细胞	(121)
第 8 章 神经系统	(125)
一、大脑	(126)
二、小脑	(130)
三、脊髓	(131)
四、神经节	(133)
五、血脑屏障	(135)
六、脑脊膜	(136)
七、脉络丛与脑脊液	(136)
第 9 章 循环系统	(139)
一、心脏	(140)
二、血管	(142)
三、淋巴管系统	(153)
第 10 章 免疫系统	(155)
一、淋巴细胞及抗原呈递细胞	(156)
二、淋巴组织	(157)
三、淋巴器官	(158)
四、单核吞噬细胞系统	(171)
五、家禽淋巴器官的组织学特点	(172)
六、鱼类淋巴器官的组织学特点	(174)
第 11 章 内分泌系统	(178)
一、脑垂体	(179)
二、肾上腺	(185)
三、甲状腺	(187)
四、甲状旁腺	(190)
五、松果体	(191)
六、弥散神经内分泌系统	(193)

七、家禽内分泌系统的组织学特点	(194)
八、鱼类内分泌系统的组织学特点	(196)
第 12 章 消化管	(201)
一、消化管的一般组织结构	(202)
二、口腔	(203)
三、咽	(204)
四、食管	(205)
五、单室胃	(206)
六、复室胃	(210)
七、小肠	(213)
八、大肠	(216)
九、消化管淋巴组织	(217)
十、消化管的内分泌细胞	(219)
十一、消化管的血管、淋巴管和神经分布	(220)
十二、家禽消化管的组织学特点	(221)
十三、鱼类消化管的组织学特点	(225)
第 13 章 消化腺	(228)
一、大唾液腺	(229)
二、肝	(231)
三、胆囊与胆管	(239)
四、胰	(240)
五、家禽消化腺的组织学特点	(243)
六、鱼类消化腺的组织学特点	(246)
第 14 章 呼吸系统	(249)
一、鼻腔	(250)
二、咽和喉	(252)
三、气管和支气管	(252)
四、肺	(255)
五、家禽呼吸系统的组织学特点	(260)
六、鱼类呼吸系统的组织学特点	(263)
第 15 章 泌尿系统	(267)
一、肾	(268)
二、排尿管道	(280)

三、家禽泌尿系统的组织学特点	(281)
四、鱼类泌尿系统的组织学特点	(283)
第 16 章 雄性生殖系统	(286)
一、睾丸	(287)
二、生殖管道	(292)
三、附属腺	(293)
四、阴茎	(294)
五、家禽雄性生殖器官的组织学特点	(294)
六、鱼类雄性生殖器官的组织学特点	(295)
第 17 章 雌性生殖系统	(298)
一、卵巢	(298)
二、生殖管道	(305)
三、家禽雌性生殖器官的组织学特点	(306)
四、鱼类雌性生殖器官的组织学特点	(309)
第 18 章 被皮系统	(312)
一、皮肤	(313)
二、皮肤的衍生物	(318)
三、家禽被皮系统的组织学特点	(323)
四、鱼类被皮系统的组织学特点	(325)
第 19 章 眼和耳	(328)
一、眼	(329)
二、耳	(336)
三、鱼类感觉器官的组织学特点	(340)
第 20 章 动物胚胎学	(343)
一、生殖细胞	(344)
二、受精	(354)
三、鱼类早期胚胎发育	(357)
四、禽类早期胚胎发育	(363)
五、哺乳动物的胚胎发育	(368)
六、胎膜和胎盘	(379)
中英文名词对照表	(389)
参考文献	(411)

绪 论

一、动物组织学与胚胎学的研究内容及意义

动物组织学与胚胎学包括动物组织学和动物胚胎学两门学科。这两门学科密切相关,因此,习惯上将它们合为一门专业基础课。

动物组织学(animal histology)是研究动物机体细微结构及其相关功能的科学,内容包括细胞、基本组织及器官组织。细胞(cell)是生物体结构和功能的单位。动物体内的细胞数量众多,结构和功能各异。以细胞为对象的研究,不断地深入发展并成为一门独立的学科——细胞学(cytology)。组织(tissue)是由形态和功能相同或相似的细胞群以及细胞间质构成的。按其形态结构和功能不同,一般将组织分为四种基本类型,即上皮组织、结缔组织、肌肉组织和神经组织。但现代组织学的研究发现,一种组织内的细胞结构、功能和来源往往是多种多样的,而且一种组织内的细胞可转移至另一种组织内。因此,应该认识到这种传统的分类仅仅是一种相对的归纳性的概念,实际上组织的结构和功能是复杂多变的。几种组织按一定的方式有机地组合构成器官(organ),各种器官都具有一定的大小和形态结构,并执行特定的功能。由一些结构上连续或功能上相关的器官组成系统(system),完成复杂的生理活动,如循环系统、消化系统、内分泌系统、生殖系统等。

动物胚胎学(animal embryology)是研究动物个体发生及其发育规律的科学。个体的发生发育为一个连续发展过程,包括3个阶段:胚前发育,即两性生殖细胞的发生和成熟过程;胚胎发育,从受精到胎儿娩出或幼体孵出的过程;胚后发育,从幼体出生后的生长发育直至性成熟的过程。

动物组织学与胚胎学是一门以研究形态结构为主的学科,随着现代科学技术的发展,其内容得到了不断充实、更新和发展。现代组织学与胚胎学的研究,已从显微结构深入到了超微结构乃至分子水平;从单学科的研究发展到与生物化学、免疫学、病理学、生殖医学等相关学科交叉渗透;从单纯的形态学描述发展到涉及细胞识别与细胞通信,细胞增殖、分化和衰老的调控,细胞与免疫,神经调节与体液调节等现代生物学和现代医学中的一些重大问题的研究。随着现代生物技术及医学

的发展,研究方法与技术的不断进步,研究内容的深入和深刻变化,使动物组织学与胚胎学与其他学科的关系更加密切,它在专业课程学习中的重要性也日益凸显出来。

动物组织学与胚胎学的研究对象主要是常见的家畜、家禽和鱼类,此外,还包括少量的经济动物等。动物组织学与胚胎学以动物学、解剖学为基础,并与生理学、生物化学、免疫学等学科密切相关,只有学习掌握动物正常的细微结构、生理功能等基础知识,才能为进一步学习病理学、药理学、临床诊断、内科学、产科学、繁殖学等专业课程奠定基础。

二、动物组织学与胚胎学的研究方法

动物组织学与胚胎学的研究方法和技术种类繁多,并随着现代科学技术的发展而不断更新发展。熟悉了解动物组织学与胚胎学的研究工具和方法,是理解和掌握这门课程的前提。

(一)一般光学显微镜技术

光学显微镜(light microscope)简称光镜,目前应用先进的光学显微镜,可将标本放大到4 000多倍。但由于受到光波波长的限制,分辨率只能达到 $0.2\ \mu\text{m}$ 。使用光学显微镜观察组织切片是组织学研究最基本的方法,大多数动物的组织器官必须做成切片标本,才能在显微镜下观察其细微结构。除了有些液体(如血液)和半固体组织(如骨髓)可制成涂片,骨组织可制成磨片,肠系膜和小的鸡胚可制成整体装片外,大多数组织可制成石蜡切片和冰冻切片。其中石蜡切片是最常用的组织制片方法,其基本原理和过程简单介绍如下。

1. **取材与固定** 捕杀健康动物后,应立刻取材以防止细胞自溶变性。所取的材料一般在 $(1.0\times 1.0\times 0.5)\ \text{cm}^3$ 大小,立即投入固定液内固定,使细胞内的组分不再发生变化,以尽量保持组织细胞在生活状态时的形态结构。常用的固定剂有甲醛、乙醇、苦味酸、四氧化锇等,一般使用几种固定剂混合的固定液,以抵消或减弱单一固定剂造成的组织收缩或膨胀。固定时间一般在24 h以上,固定后的组织块稍硬,便于进一步的修整和处理。

2. **脱水与透明** 固定后的组织块内的固定液和水分要彻底脱去,以便石蜡浸入。常用的脱水剂是从低浓度到高浓度的乙醇。但乙醇与包埋用的石蜡不相溶,故在浸蜡之前,使用同时能与乙醇和石蜡相溶的二甲苯、氯仿等透明剂置换出组织中的乙醇。由于这类溶剂能使组织块呈半透明状态,故这一过程又称透明。

3. 浸蜡与包埋 透明后的组织块置于温度刚过熔点的石蜡中浸蜡,使石蜡逐渐渗入组织并完全置换出透明剂。浸蜡完成后,迅速将组织块移到盛有溶化的石蜡包埋模具中,待冷却后把模具剥掉,组织块就包埋在石蜡块中,具有一定硬度的蜡块较容易切成薄片。

4. 切片与贴片 切片之前必须将蜡块修整,然后将蜡块黏贴在小木块上,夹在切片机的固定器上就可进行切片。切片的厚度以 $5\sim 8\ \mu\text{m}$ 为宜。将石蜡切片放在温水(40°C 左右)表面,使切片时形成的皱褶舒展开来,这一步骤称为展片,然后将切片捞贴在洁净的载玻片上(图 1),放入温箱内逐渐烘干。

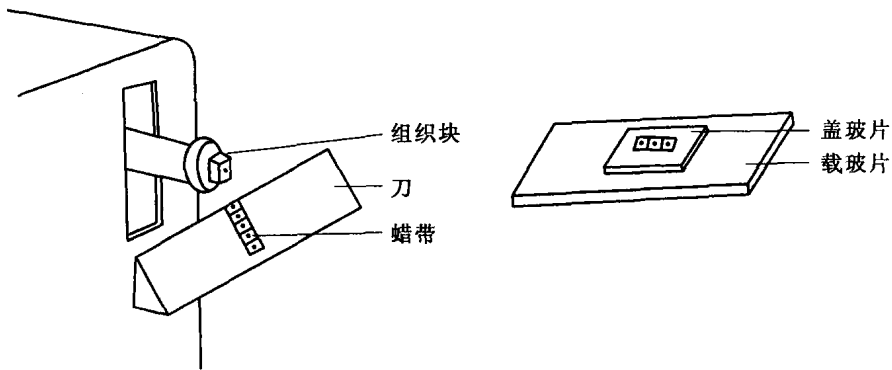


图 1 石蜡切片方法

5. 染色与封片 染色的目的是使组织细胞不同的细微结构呈现不同的颜色,便于在显微镜下观察。组织学中常用的染色方法是苏木精-伊红染色法(hematoxylin-eosin staining method),简称为 HE 染色法。苏木精为碱性染料,可使细胞核呈现蓝色;伊红为酸性染料,可使细胞质呈现浅红粉色。组织和细胞中的酸性物质与碱性染料如苏木素等的亲和力强,易被染成蓝色的特性,称为嗜碱性(basophilia);组织和细胞中含有的碱性物质与酸性染料如伊红等有较强的亲和力,易被染成深浅不同的红色的特性,称为嗜酸性(acidophilia)。另外,有些组织或细胞的结构,染色时会呈现出与染料完全不同的颜色,这种颜色上的异常现象,就称为异染性(metachromasia)。如甲苯胺蓝染肥大细胞时,其胞质颗粒不呈现染料的蓝色而呈现紫红色。银染法是用硝酸银、氯化金等重金属盐显示细胞和组织的某些结构,是使金属微粒附着在这些结构表面而呈棕黑色或棕黄色。银染法中有些组织结构可直接使硝酸银还原而显色,称此为亲银性(argentaffin);有些结构无直接还原硝酸银的作用,需加入还原剂方能显色,则称为嗜银性(argyrophilia)。

切片染色后,还要经过一系列的脱水、透明,再加适量的中性树胶封片,这样可以延长保存时间,还可增加标本的折射率,获得更加清晰的效果。

(二)几种特殊显微镜技术

1. 荧光显微镜(fluorescence microscope) 荧光显微镜由光源、滤片系统和显微镜三部分构成,主要用于观察组织细胞中的荧光物质。荧光显微镜技术常以紫外光为光源,激发标本中的荧光物质产生荧光,通过观察荧光的分布与强弱,来测定被检物质。荧光分自发性荧光和继发性荧光,标本不经荧光素染色就可呈现荧光是自发性荧光,如维生素 A 可呈绿色荧光,神经细胞内的脂褐素呈黄色荧光;继发性荧光是使用不同的荧光素染色,使标本的不同结构成分产生不同的荧光,若用吖啶橙染色可使细胞内 DNA 呈黄绿色荧光, RNA 呈橘红色荧光。目前广泛应用的免疫荧光染色法,是使用荧光素标记抗体,以检测抗原的存在和分布。

2. 相差显微镜(phase contrast microscope) 相差显微镜主要用于观察体内分离和体外培养的活细胞的形态结构。相差显微镜是通过特殊的镜头,将细胞内各种结构对光产生不同的折射转换为光密度差异(明暗差),使观察的细胞结构反差明显,形象清楚,并具有立体感。

3. 暗视野显微镜(dark-field microscope) 暗视野显微镜主要用于观察溶质中粒子的布朗运动、反差小的微小颗粒。此种显微镜有一个暗视野聚光器,使光线不能直接进入物镜而呈暗视野,而让标本内的小颗粒产生的衍射光或折射光进入物镜,颗粒在暗视野中呈明亮的小点,如同在暗室中射入的一束光线内可见到微小的尘埃一样。暗视野显微镜分辨率较高,可达到 4 nm,适用于观察原虫、线粒体的运动、鞭毛及纤毛的摆动等状况。

4. 偏光显微镜(polarizing microscope) 偏光显微镜是根据某些组织细胞由于其细微结构的不同,当光线通过标本时,光速和折射率会发生不同程度改变的特性来制作的。主要用于检测细胞内一些具有双折射性的物质,如纺锤体、纤维丝、染色体等。偏光显微镜和普通显微镜不同的是增加了两片偏光镜,在光源和被检物之间装有偏振片(起偏器),使进入显微镜的光线为偏振光。在镜筒中装有检偏器(偏振方向与起偏器垂直),这种显微镜的载物台是可以旋转的,当载物台上放入单折射的物质时,无论如何旋转载物台,由于两个偏振片是垂直的,显微镜里看不到光线;而放入双折射性物质时,由于光线通过这类物质时发生偏转,因此旋转载物台便能检测到这种物体。如肌原纤维上的明暗带,明带属于双折光性,视野明亮,而暗带属单折光性,视野变暗,不用染色就能把肌节的明、暗带区分开来。

5. 倒置显微镜 (invert microscope) 倒置显微镜的组成和普通显微镜一样,只不过将物镜与聚光器和光源的位置颠倒过来,物镜在载物台之下,聚光器和光源在载物台之上,配有相差物镜,用于观察培养的活细胞。随着基因细胞工程技术的不断发展,还可将显微操纵仪组装到倒置显微镜上,进行细胞注入、去核、胚胎切割等方面的实验。

(三)电子显微镜技术

电子显微镜 (electron microscope) 简称电镜,是德国科学家 Ruska 和 Knoll 于 1932 年发明的。电子显微镜以电子束穿透样品,经聚合放大后,显像于荧光屏上进行观察和摄影。分辨率高达 0.2 nm,可将结构放大几万倍至几十万倍,使人们对微观世界的认识,从显微结构深入到亚微结构,并进入了分子和原子水平。

电镜下所见的结构,称为亚微结构或超微结构 (ultrastructure)。在光镜和电镜下进行观察,常用的长度计量单位为毫米 (mm)、微米 (μm)、纳米 (nm) 和皮米 (pm),这些单位间的关系如下:

- 1 mm = 1 000 μm 显微结构 光镜观察组织与细胞
- 1 μm = 1 000 nm 亚微结构 电镜观察细胞与细胞器
- 1 nm = 1 000 pm 超微结构 超高压电镜观察分子结构

1. 透射电镜 (transmission electron microscope) 透射电镜以电子束穿透标本,投射到荧光屏上,出现黑白反差的结构影像。由于电子束穿透力弱,故样品的制备更为严格。样品经戊二醛、四氧化锇等固定,用树脂包埋,以超薄切片机切成厚度为 50~80 nm 的超薄切片,再经醋酸铀和柠檬酸铅等染色,电镜下观察,呈现深色的结构电子密度高,呈浅色的结构则电子密度低。

2. 扫描电镜 (scanning electron microscope) 扫描电镜用于观察细胞、组织、器官表面的立体结构。样品经固定、脱水、干燥后,在其表面喷镀一层碳膜和合金膜即可观察。此种电镜的特点是视场大,景深长,样品制作比较简单,在荧光屏上扫描成像,呈现富有立体感的表面图像,能显示三维的超微结构 (图 2)。常用于观察细胞表面的突起、微绒毛、纤毛及细胞的分泌与吞噬行为等。

3. 冷冻蚀刻术 冷冻蚀刻术也叫冷冻蚀刻复型术 (freeze etch replica),是在透射电镜下观察组织或细胞断裂面的金属复制膜,显示细胞细微结构的立体影像。组织块经甘油生理盐水处理后 (防止形成冰晶) 投入液氮内快速冷冻,在低温下用钢刀将样品劈开,在断裂面上喷镀金属膜,用次氯酸等再将组织溶去即得到金属复制膜。用电镜观察断裂面的金属复制膜,能显示细胞细微结构的立体图像。此项

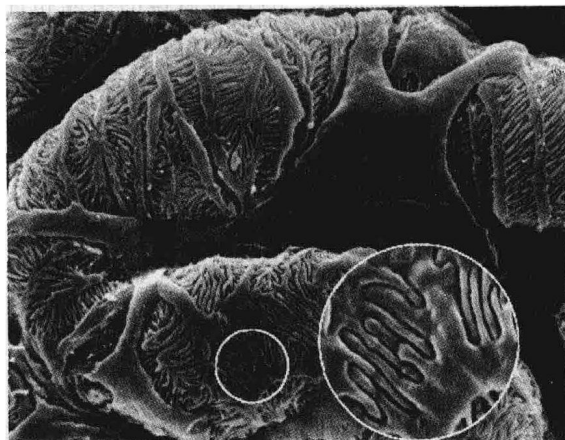


图2 肾小球足细胞扫描电镜图

摘自 Ross M H, Reith E J, Romrell L J 主编《组织学:教材和图谱》第2版

技术尤其适用于研究生物膜的内部结构,它可显示细胞膜上蛋白质的颗粒分布等,是研究细胞结构的重要手段。

(四)组织化学技术

组织化学(histochemistry)和细胞化学(cytochemistry)技术是利用化学、物理、生物化学、免疫学反应的原理,与组织学技术相结合而产生的技术,能在组织切片中定性、定位、定量地显示某种物质的存在以及分布状态,还可进一步用显微分光光度计或图像分析仪,测定切片中该物质反应的强度,获得定量的信息。

1. 一般组织化学 基本原理是在切片上加上某种试剂,使化学试剂与组织细胞细微结构中的化学成分及酶发生直接或间接反应,其最终产物形成有色沉淀物,可以用光镜观察;或形成重金属沉淀,可以用电镜观察。

(1)糖类 常用过碘酸希夫反应(periodic acid Schiff reaction, PAS 反应)显示多糖和糖蛋白的糖链。糖被强氧化剂过碘酸氧化后,形成多醛;后者再与无色的品红硫酸复合物(即希夫试剂)结合,形成紫红色反应产物。故多糖和糖蛋白呈 PAS 阳性反应。

(2)脂类 标本用甲醛固定,冷冻切片,用油红 O、尼罗蓝或苏丹类脂溶性染料染色,使脂类(脂肪、类脂)呈现相应颜色。也可用钼酸固定兼染色,脂类呈黑色。

(3)核酸 显示 DNA 的传统方法为福尔根反应(Feulgen reaction)。标本先

经稀盐酸处理,使 DNA 分子中脱氧核糖和嘌呤碱之间的连接键打开,释放出醛基与希夫试剂作用,形成紫红色反应产物。如要同时显示 DNA 和 RNA,则用甲基绿—派若宁染色,甲基绿与细胞核 DNA 结合呈蓝绿色,派若宁与核仁及胞质内的 RNA 结合呈红色。

(4)酶类 细胞内有多种酶类,目前已有 100 多种酶组织化学染色法。酶组织化学染色,主要是通过显示酶的催化活性来表明酶的存在。一般是将切片置于含有特异性底物的溶液中孵育,底物经酶的作用,形成初级反应产物,它再和某种捕捉剂结合,形成显微镜下可见的沉淀物,即最终反应物。例如,显示酸性磷酸酶,先将切片放入含有酸性磷酸酶底物(常用 β -甘油磷酸钠)的溶液中孵育,底物经酶水解,释放磷酸,用捕捉剂硝酸铅与磷酸反应,形成细微的磷酸铅,沉淀于酶存在的部位,此时可在电镜下观察(经超薄切片后);如再用硫化铵处理,磷酸铅被置换形成粗颗粒状的黑色硫化铅沉淀物,便可用光镜观察。可见酶组织化学染色不是酶本身直接显色,而是酶作用于底物后产生的反应产物显色。由于酶大都是蛋白质,故近年来更多采用免疫组织化学方法显示。

2. 免疫组织化学 (immunohistochemistry) 免疫组织化学或免疫细胞化学 (immunocytochemistry),是应用特异性的抗原抗体结合的免疫学原理,检测组织或细胞内及细胞膜表面所含抗原和受体的分布。凡具有抗原性的物质,如多肽、激素、酶等,即使含量极微,也可用此方法检出。由于组织和细胞内抗原抗体的反应是不可见的,所以需要事先将某种标记物结合在抗体上,才能在光镜或电镜下观察到是否发生了特异性反应,以及反应所在的部位。根据标记物的种类,一般分为免疫荧光技术 (immunofluorescence technique)、免疫酶技术 (immunoenzyme technique)、亲和组织化学技术 (affinity histochemistry)、免疫金银技术 (immunogold-silver technique) 等。这些方法特异性强、敏感度高、应用广泛,而且发展迅速,是一种非常重要的研究手段。目前,免疫组织化学技术,正向定量和分子水平发展。标记抗体与被检抗原的结合方式有两种:

(1)直接法 用标记抗体与样品中的抗原直接结合,在显微镜下可见抗原存在部位呈现特异性标记。这种方法操作简便,但敏感度不及间接法。

(2)间接法 间接法是将分离的抗体(第一抗体,简称一抗)再作为抗原免疫另一种动物,制备该抗体(抗原)的抗体(第二抗体,简称二抗),再以标记物标记二抗。先后以一抗和标记二抗处理样品,最终形成抗原—一抗—标记二抗复合物。间接法中较常用的是过氧化物酶-抗过氧化物酶复合物法 (peroxidase-antiperoxidase complex method, PAP 法),该法除需一抗和二抗外,还需制备辣根过氧化物酶