

供基础医学、临床医学、护理、医学技术等专业使用

# 组织学与胚胎学 实验

ZUZHIXUE YU PEITAIXUE SHIYAN

组织学与胚胎学是一门形态学科，也是高等医学教育中两门重要的医学基础课程。实验课是践行理论知识的重要课程，是培养学生分析问题和解决问题能力的重要手段。

主编 / 齐云飞

主审 / 李玉林 郭德华

 人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

供基础医学、临床医学、护理、医学技术等专业使用

# 组织学与胚胎学实验

ZUZHIXUE YU PEITAI XUE SHIYAN

主 编 齐云飞

主 审 李玉林 郭德华

副主编 牟英君 孟 娟 张菁华

编 者 (以姓氏笔画为序)

齐云飞 汤小华 牟英君 苏衍萍

吴 琪 张菁华 张鸿雁 孟 娟

霍兴华

 人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

北 京

---

**图书在版编目(CIP)数据**

组织学与胚胎学实验/齐云飞主编. —北京:人民军医出版社,2008.9

ISBN 978-7-5091-2033-0

I.组… II.齐… III.①人体组织学—实验—医学院校—教材②人体胚胎学—实验—医学院校—教材 IV.R32-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 130149 号

---

策划编辑:李玉梅 丁 震 文字编辑:郁 静 责任审读:张之生

出 版 人:齐学进

出版发行:人民军医出版社

经销:新华书店

通信地址:北京市 100036 信箱 188 分箱

邮编:100036

质量反馈电话:(010)51927243;(010)51927283

邮购电话:(010)51927252

策划编辑电话:(010)51927300—8746

网址:[www.pmmp.com.cn](http://www.pmmp.com.cn)

---

印刷:三河市春园印刷有限公司 装订:春园装订厂

开本:787mm×1092mm 1/16

印张:10.5 字数:240 千字

版、印次:2008 年 9 月第 1 版第 1 次印刷

印数:0001~6100

定价:19.00 元

---

版权所有 侵权必究

购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换

# 前 言

组织学与胚胎学是一门形态学科,也是高等医学教育中两门重要的医学基础课程。实验课是践行理论知识的重要课程,是培养学生分析问题和解决问题能力的重要手段。为进一步提高教学质量,解决实验课程中的学习难点,突出教学重点,我们编写了《组织学与胚胎学实验》,以适应现代医学基础课实验教学改革的需要。

本书以五年制医学专业的教学大纲为依据,是卫生部规划教材的配套实验教材。全书共 22 章,编写内容突出了 3 个特点:

第一,对每一观察标本及示教的描述,都是按肉眼观察—低倍镜观察—高倍镜观察的思维过程展开,条理清晰,内容丰富,语言精练,重点突出。

第二,每一章前设有“导读”,章后写有“小结”,对各章的学习方法给予指导,重要内容及临床联系给予概括,对结构类似容易混淆的细胞和一些组织器官,给予列表归纳比较。

第三,本书的编写基于 4 个“有利于”:有利于学生对书本知识的学习,有利于培养学生独立思考问题的能力,有利于培养学生综合分析问题的能力,有利于培养学生合理解决问题的能力。

本书适用于专科以上的基础医学、临床医学及相关专业的基础医学实验课程的教学,亦可供高等医学院校的基础医学课程的教师及研究人员参考。

由于我们的水平有限,对书中的不妥之处,恳请各界同仁和读者不吝赐教,以便再版时修正。

齐云飞

2008 年 8 月

# 目 录

|                     |       |
|---------------------|-------|
| 第 1 章 绪论            | (1)   |
| 第一节 研究技术            | (1)   |
| 第二节 学习方法            | (5)   |
| 第三节 实验须知            | (7)   |
| 第 2 章 上皮组织          | (14)  |
| 第 3 章 结缔组织          | (20)  |
| 第 4 章 肌组织           | (36)  |
| 第 5 章 神经组织          | (42)  |
| 第 6 章 循环系统          | (54)  |
| 第 7 章 皮肤            | (61)  |
| 第 8 章 免疫系统          | (66)  |
| 第 9 章 消化系统          | (74)  |
| 第一节 消化管             | (74)  |
| 第二节 消化腺             | (85)  |
| 第 10 章 呼吸系统         | (94)  |
| 第 11 章 泌尿系统         | (100) |
| 第 12 章 内分泌系统        | (106) |
| 第 13 章 男性生殖系统       | (113) |
| 第 14 章 女性生殖系统       | (120) |
| 第 15 章 眼与耳          | (129) |
| 第 16 章 人胚发生和早期发育    | (138) |
| 第 17 章 颜面和四肢的发生     | (145) |
| 第 18 章 消化系统和呼吸系统的发生 | (147) |
| 第 19 章 泌尿系统和生殖系统的发生 | (151) |
| 第 20 章 心血管系统的发生     | (154) |
| 第 21 章 神经系统和眼耳的发生   | (157) |
| 第 22 章 畸形学概论        | (160) |

# 第1章 绪 论

## 第一节 研究技术

组织学与胚胎学研究技术是利用各型显微镜和不同的实验方法,研究机体微细结构及结构与功能之间关系的一些技术方法。熟悉这些研究技术,对学好组织学与胚胎学将有很大的帮助,为以后科学研究打下良好的基础。本章仅介绍一些常用的研究技术,供学习时参考。

### 一、一般光学显微镜技术

#### (一)制片方法的种类

实验教学中要观察的各种组织标本,所采取的制片方法很多,主要有以下几种。

1. 切片标本 是组织学研究中最为广泛应用的基本方法。根据所用的支持物质不同,切片方法可分为石蜡包埋切片、火棉胶包埋切片和冷冻切片,尤以石蜡包埋切片最常用。石蜡和火棉胶包埋切片制作中,组织要经取材、固定、脱水、透明、包埋、切片、染色和封固等步骤;冷冻切片则只经过取材、固定、冷冻、切片、染色和封固等步骤,通常用于研究组织化学。

2. 铺片标本 将膜状组织结构如大网膜、肠系膜或皮下组织、神经丛等伸展后平铺于载玻片上,经固定、染色和封固等过程而制成的标本,主要用于观察各种结构成分的整体形态和微细结构。

3. 涂片标本 将机体液态的组织成分如血液、骨髓或内脏器官的排出物如精液、阴道脱落细胞等直接涂抹于载玻片上,经固定、染色制成标本,主要用于观察细胞的形态和微细结构。

4. 磨片标本 不经脱钙及切片程序而直接用手工在磨石上磨成薄片,经过染色或不染色,然后封固制成的标本,如骨磨片、牙磨片等。

5. 分离标本 将极小组织块浸入化学药品分离液内,溶去其细胞间质,采用机械分离方法(如振荡、针拨等)使之分离成单个而又完整的细胞,经染色和封固制成的组织标本,如肌纤维、神经元等。

6. 压片标本 组织经化学药物软化、染色、撕碎后,用盖玻片压平于载玻片上所制成的组织标本,如运动终板、肌梭等。

7. 活体标本 指光镜下直接观察活细胞或活组织的形态和运动的标本,如将蛙的口腔黏膜取下放于载玻片上,迅速滴加生理盐水(0.64% NaCl 水溶液)以观察其纤毛运动。其他如精子运动亦可按此方法进行观察。

8. 血管注射标本 将卡红、普鲁士蓝、墨汁等染料加明胶配制成染液注入到血管内,然后取材、固定、包埋、切片和封固所制成的组织标本,如肝、肾、肺、小肠等血管注射切片标本,以观察其血管的分布特点。

9. 整体装片标本 将很小的动物或早期胚胎,经固定、染色和封固制成的标本,如鸡胚,可以观察胚体的表面立体形态特征。

(二)制作组织切片的方法与步骤

组织标本的各种制片方法在具体操作上虽有所不同,但其一般程序是基本相同的,都需要经过取材、固定、染色和封固等主要步骤。如果是切片标本,则需要增加一个切片步骤。把各种制片方法归纳为切片法和非切片法两大类(图 1-1)。

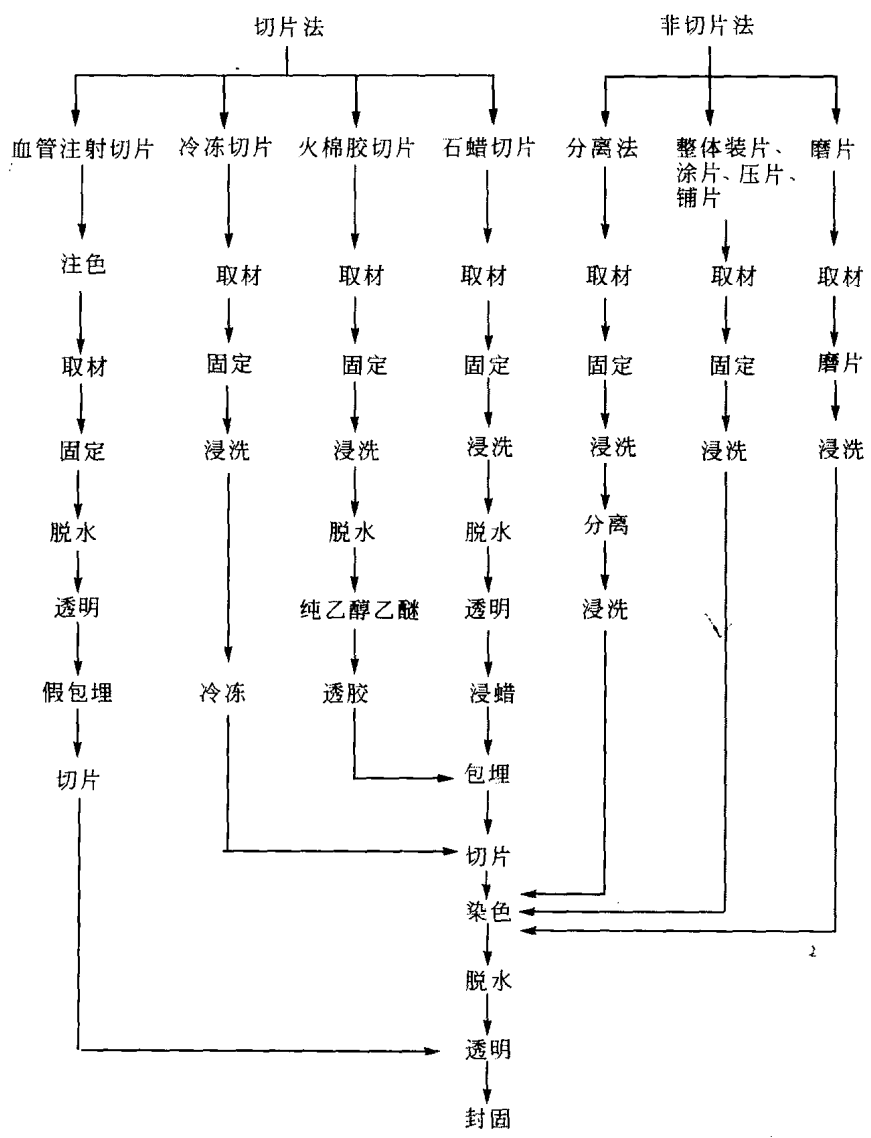


图 1-1 组织切片制作法

切片法是指用切片刀将已包埋或冰冻的各种组织切成薄片制成组织标本的方法；非切片法则是不用切片刀，经其他手段制成组织标本的方法。后者可使组织结构成分保持原有形状，但会使某些结构产生移位。

### (三) 几种常用的染色方法

在自然状态下，绝大多数组织是无色不透明的，需用相应的方法制成薄片，再经过染色和透明后才能供显微镜观察。组织制片中最常用的方法是石蜡包埋切片，经苏木精-伊红染色法(Hematoxylin-eosin staining, 简称 HE 染色法)为最常用的染色法。现对此种常规制片染色方法的制作过程详细介绍如下，并列举其他几种常用的特殊染色方法，使学生能举一反三对实验中所观察的组织标本的染色和制作过程有所了解。

#### 1. 石蜡包埋切片与苏木精-伊红染色法

(1)取材：所取组织愈新鲜愈好，并迅速投入固定液中。组织块厚度不应超过 0.5cm。

(2)固定：固定的目的是能迅速阻止细胞的死亡后变化，防止自溶与腐败，保持细胞原本的结构和形态，使其与生活时相似。常用的固定液有 Zenker 液、10% 甲醛溶液(福尔马林)、Bouin 液等。组织块与固定液的比例为 1 : 20，固定时间为 24 小时。

(3)冲洗与修整：组织块固定后将受挤压和不需要的部分修切整形，同时将包埋面选择好。修切完毕流水冲洗 24 小时，否则固定液留在组织中会有碍于染色。

(4)脱水：将组织块内水分全部除去的过程称为脱水。常用的脱水剂是一系列不同浓度的乙醇。脱水时必须从低浓度脱水剂开始，逐步转入高浓度脱水剂，以防止组织过度收缩而变形，脱水时间不可过长。将组织块经 50%→70%→80%→90%→95%→100% 各级乙醇，在各级乙醇中分别为 1~2 小时。

(5)透明：透明的目的是使组织中的乙醇被透明剂替代而利于浸蜡和包埋。常用的透明剂有二甲苯、氯仿，二甲苯透明能力强，但易使组织变硬变脆，故组织块在二甲苯中不宜久留，小块组织 30 分钟为宜，大块组织不可超过 2 小时。氯仿即三氯甲烷，其透明能力较二甲苯差，透明时间可以长达 24 小时，不易使组织变脆，组织块下沉至瓶底后即表示透明完成。

(6)浸蜡：将已透明的组织块移入熔化的石蜡内浸渍即为浸蜡。其目的是借助组织中的透明剂，使石蜡浸入组织块，获得一定的硬度和韧度，以便切成很薄的切片。把已透明的组织块放入蜡杯(I)→蜡杯(II)→蜡杯(III)，浸蜡时间视材料大小而定，一般总浸蜡时间为 2~4 小时，均在恒温箱内进行。

(7)包埋：将浸蜡后的组织块包埋于石蜡中，并使之凝固成蜡块，这一过程称为包埋。把浸蜡后的组织块放在 52~58℃ 的已溶解的石蜡中(一定形状的容器)，使之凝固其中做成蜡块便于切片。

(8)切片：用切片机将包含组织的蜡块切成 4~8μm 厚的薄片。

(9)贴片和烤片：将蜡片粘贴在载玻片上即贴片。贴片的目的是将石蜡切片黏附在载玻片上，借水的张力和一定的温度使略皱的蜡片伸展平整，以便染色。方法是用小镊子将蜡片轻轻放在 37~40℃ 的温水面上，待完全展平后持一涂有蛋白甘油的载玻片将其轻轻捞起，然后放在烤片架上，置于 50℃ 左右温箱内烤干。

(10)染色：一般的染液多为水溶液或乙醇溶液，故染色前必须先经脱蜡复水等步骤。

①脱蜡：将烤干的切片放入二甲苯(I)、二甲苯(II)各 5~10 分钟，以溶去切片上的

石蜡。

②复水:将脱蜡后的切片经各级不同浓度的乙醇逐步下降一直到水为止。即从二甲苯(Ⅱ)中取出的切片放入100%、95%、90%、80%、70%等各级浓度的乙醇,使组织逐步重新充满水分,在各级浓度乙醇中分别停留5~10分钟,然后用蒸馏水洗去乙醇即可染色。

③染色:将蒸馏水洗涤后的切片移入苏木精液中5~10分钟→用自来水洗2分钟→1%盐酸乙醇分色数秒钟(且需随时用显微镜检查,使细胞核着色清晰适度,细胞质及胶原纤维几乎无色)→蒸馏水洗→流水冲洗30~60分钟→蒸馏水洗2遍→0.5%伊红液中染2~5分钟→蒸馏水洗2遍。

(11)脱水:已染色后的切片依次放入70%、80%、90%、95%、100%等各级浓度的乙醇内分别停留5~10分钟。

(12)透明:切片脱水后放入二甲苯(Ⅰ)、二甲苯(Ⅱ)均停留5~10分钟。

(13)封固:用透明的树胶及盖玻片封固。方法:将已透明的组织切片从二甲苯(Ⅱ)中取出,用纸或布擦去切片周围的二甲苯,在切片中央滴一小滴中性树胶,然后用镊子加盖盖玻片,盖片时速度要慢,以防止产生气泡。染色后,细胞核呈紫蓝色,细胞质及某些细胞间质呈粉红至红色。

2. 镀银染色法 机体中某些组织结构成分经硝酸银处理后形成细小的银微粒附着在组织结构上,再经还原使其呈棕黑色,便于光镜下观察。此法主要用于显示网状纤维、嗜银细胞、神经组织等组织结构成分,应用范围仅次于HE染色法。

3. Wright 染色法 见第3章血涂片标本的制作。

4. 活体染色法 把无毒或毒性很低的染料如台盼蓝、墨汁等注射到动物体内,通过巨噬细胞的吞噬作用,将染料吞噬于细胞内,以此而识别巨噬细胞,常用于观察结缔组织和各种器官内的巨噬细胞。

## 二、电子显微镜技术

电子显微镜(简称电镜)是观察细胞和细胞间质超微结构的电子仪器。电镜可分为透射电镜(通常所指的电镜)和扫描电镜。

1. 透射电镜技术 透射电镜是以电子束为光源,经过磁场达到聚焦和放大,将物镜上的影像投射到荧光屏上。其标本制作也须经过固定(固定液为戊二醛、锇酸等)、环氧树脂包埋、超薄切片厚为50~80nm,用醋酸铀和柠檬酸铅等重金属盐染色,形成黑白反差,然后在电镜荧光屏上显微观察和摄片。被重金属盐染成深黑色的结构图像,其电子密度高;而经重金属盐染色后,色浅的结构图像则电子密度低。

2. 扫描电镜技术 扫描电镜是用来观察细胞、组织或器官的表面立体形状的。组织块经固定、干燥后,在其表面先后喷镀一层碳膜和合金膜,即可在扫描电镜下观察和摄片。其特点:视场大、景深长,图像富有立体感。另外,不需包埋切片,而且样品制备也较简单。

## 三、组织化学与免疫组织化学技术

1. 组织化学技术 组织化学技术(简称组化技术)就是利用化学试剂与组织或细胞内的某些物质如蛋白质、酶、糖原和核酸等发生化学或物理反应,并在反应的原位产生有色物

质,然后用显微镜观察,可以对所显示的有色物质进行定位、定性、定量分析研究,将结构与功能密切联系起来。如过碘酸希夫反应(periodic acid Schiff reaction, PAS 反应)就是组织切片中的多糖经过过碘酸氧化形成多醛,使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。如果所形成的有色物质仅是在光镜下观察的组化标本,此技术称之为光镜组化技术;若组化技术与电镜技术相结合制成的标本,供电镜观察用,则称之为电镜组化技术。

2. 免疫组织化学技术 免疫组织化学技术(简称免疫组化技术)是根据抗原与抗体特异性结合的原理,对组织细胞内含有的酶、激素及其他有抗原性的物质进行定位、定性、定量分析研究。

标本制备时先向动物体内注入抗原,然后从其血清中提取该抗体,用荧光素、酶、铁蛋白或金等标记,再以这种标记抗体与组织中相应抗原特异性进行结合,即可在显微镜下观察。如果免疫组化标本仅是在光镜下观察,此技术称之为光镜免疫组化技术;若免疫组化技术与电镜技术相结合,供电镜观察用,则称之为电镜免疫组化技术。

3. 其他技术 组织学研究技术除了上述方法以外,还有原位杂交术、放射自显影术、图像分析术、细胞培养术和组织工程等,由于与本书所列实验内容关系不大,故此不做详述。

## 第二节 学习方法

组织学(histology)与胚胎学(embryology)是属于生物科学的两门形态学科。组织学是研究机体微细结构及其相关功能的科学,研究内容为细胞、基本组织和器官系统三部分,主要学习基本组织和器官的组织结构。胚胎学是研究从受精卵发育为新个体的过程及其发育机制的科学,研究内容包括人体胚胎发育总论、器官系统的发生及先天性畸形等。组织学与胚胎学是互相联系的两门独立学科,我国医学教育习惯上将其列为一门课程。

### 一、组织学学习方法

1. 形态与功能相结合 组织学是一门描述性的形态学科。在学习应注意应以掌握形态结构为主,但形态结构的特点是与一定的生理功能相适应的。结构是功能的基础,而功能的变化会影响结构也发生改变。例如浆细胞胞质内含有丰富的粗面内质网和高尔基复合体,因此能合成与分泌免疫球蛋白,即抗体。人体没有结构的功能和没有功能的结构都是不存在的,所以“以结构联系功能,以功能联想结构”的学习方式是学习组织学的基本方法。

2. 理论与实践相结合 理论与实践相结合是学好组织学的另一重要方法。组织学的实践主要体现在两方面:一是讲授理论课时运用的板图、挂图、模型、幻灯投影、多媒体等直观形象,可有助于对理论内容的理解和记忆;二是在实验课中通过观察组织标本、幻灯片、录像片、多媒体等实验手段,辨认各种细胞、组织和器官的形态结构特点来验证理论内容,才能深化对理论知识的理解和掌握。“百闻不如一见”,因此,直接观察组织标本在组织学学习中显得十分重要。

3. 平面与立体的关系 组织切片标本或各种类型的图像只是该结构的一个平面,不是整体的结构。应注意同一物体不同断面中可显示出不同的结构图像(图 1-2~1-4)。因此学

习时要把所观察到的平面形态结构图像与理论知识联系起来,通过综合分析和发挥自己的想象力,建立起对整个器官、组织或细胞的立体概念。

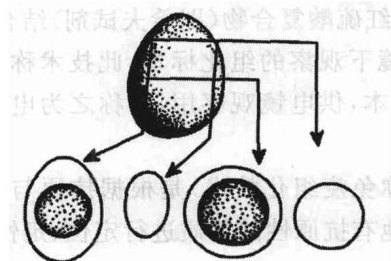


图 1-2 鸡卵的多种切面

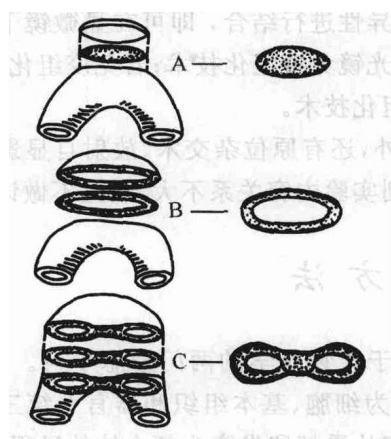


图 1-4 弯管形器官的多种切面

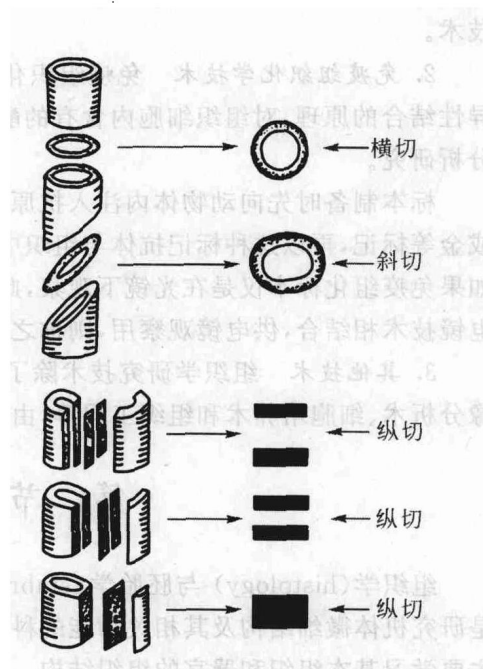


图 1-3 直管形器官的多种切面

学习组织学时,要运用综合分析、比较归纳的方法,全面认识相互之间的共性并且抓住各自的个性,如肌组织,肌细胞都是细长形的(共性),根据细胞的形态、核的数目及分布的部位(个性)可以在纵、横切面区别 3 种肌细胞。

## 二、胚胎学学习方法

胚胎学教学中,普遍感到老师教之费力,学生学之困难。其实并非如此,只是由于学习内容与组织学不同,学习方法也有差异,因此,学习胚胎学应注意如下几点。

1. 掌握动态变化 胚胎发育是连续的发生发展过程,在发育的各个阶段,胚胎的各部分或各系统都同时发生不同的形态结构变化,而且相互关联,相互依存。因此,在学习时应注意发育的连续性,建立起动态的立体概念。

2. 构思立体概念 学习时应注意时间、空间、结构三者的相互关系。通过观察板图、模型、幻灯片、录像片、多媒体以及胚胎组织标本与大体标本,结合理论内容充分发挥自己的想象力,建立起人胚各系统发生和附属结构形成中动态变化的立体概念。

3. 抓总论带系统 掌握胚胎学总论内容是学好胚胎学的关键。在此基础上学好各系统器官正常发生的起始与演变过程,那么对各个器官组织结构的胚层来源和常见的先天性

畸形的理解也就迎刃而解了。

### 三、预习和复习

1. 课前预习 课前大致通读一遍将讲的内容,使得对本章节内容、重点和难点之处做到心中有数,有利于在学习中发挥自己的主观能动性,不至于课堂上被牵着鼻子走。这种课前预习的学习方法往往会获得事半功倍的学习效果。

2. 课后复习 听课时,要精力集中,思维活跃,并做好课堂笔记。课后按教学大纲要求,回想课堂内容进行全面系统的理论复习。在系统复习的基础上,抓住重点、兼顾一般,掌握形态、联系功能。复习的主要方法应循序渐进,可从器官的一般解剖结构→一般组织结构→形态结构特征→细胞结构特征(从光镜和电镜下细胞的形状、排列和分布→细胞核→胞质内各细胞器的形态和数量以及内含物的数量和存在方式等特点考虑)→功能;亦可从组织或器官的功能→结构特征→执行功能的细胞结构特点,甚至联系到各部分结构的胚层来源;也可以大标题→小标题→具体内容的顺序进行。复习时应注意:第一,要结合书中图解和实验观察标本内容,联想课堂讲课时所用的挂图、板图、模型等进行复习,千万不可抛开直观形象去背理论内容;第二,对书中的专业名词要结合概念、位置、词汇记忆,尤其是教学大纲中规定应该掌握的专业名词、英文词汇必须重点记忆。

3. 自学与讨论 鼓励同学对某些章节进行自学,教师给予必要的引导。另外在同学之间互相提问和讨论学习中存在的问题,可以帮助深化理解,巩固记忆,从而也培养学生的综合分析能力和思维表达能力。

## 第三节 实验须知

### 一、实验目的与要求

实验课是组织学与胚胎学教学中的重要组成部分。其目的是通过观察组织标本、模型、观看幻灯片、录像或多媒体以及一些基本操作训练,进一步深化理论内容的理解和巩固所学的知识,培养其观察比较、分析综合和解决问题的能力,为学好基础医学和临床医学诸科打下坚实的基础。要求同学识别人体各细胞、组织和主要器官的光镜结构,并能辨认人体主要细胞、组织的超微结构,正确地理解它们的局部与整体、平面与立体、结构与功能的关系。要求同学熟悉人体各系统器官的正常发生和常见先天性畸形的形态特点及形成原因。

### 二、实验注意事项

组织学与胚胎学实验是在同学们已学过的理论基础上,并在独立操作的原则下进行的,教师仅在具体内容上给予必要的指导。因此,要求参加实验的同学注意如下事项:

1. 实验前必须复习好理论课,预习实验指导中本次实验内容,明确实验要求。
2. 按时上下课,不迟到、不早退、不旷课,有事先请假。
3. 不准穿背心、短裤、拖鞋进实验室,一律穿隔离衣。
4. 实验前应携带实验指导、教科书、绘图纸和绘图用具,并领取显微镜和组织标本。

5. 课前清点一下组织标本是否齐全、完整,并将各种实验用具在实验台上按一定的位置放好。
6. 应保持实验室内清洁、肃静,有疑问时可与邻近同学小声讨论或请求老师解答。
7. 实验室内禁止吸烟,不准随地吐痰、到处乱画、乱扔纸屑或笔屑。
8. 实验时要认真完成实验任务和指定的实验作业,并按顺序观察示教内容。
9. 要爱护公共财物、实验标本和教具。若有损坏,应及时报告老师,进行妥善处理。
10. 实验完毕,应将实验标本和教具按顺序放回原处。值日同学打扫卫生,关好日光灯、水龙头、门窗后,方能离开实验室。

### 三、一般光学显微镜的结构及使用方法

光学显微镜(通常称显微镜或光镜)是组织学实验观察的主要仪器。了解光镜的结构,正确而又熟练地使用光镜是本门学科重要的基本技能训练项目之一。

#### (一)光镜的结构

光镜结构主要由机械部分和光学部分组成(图 1-5)。

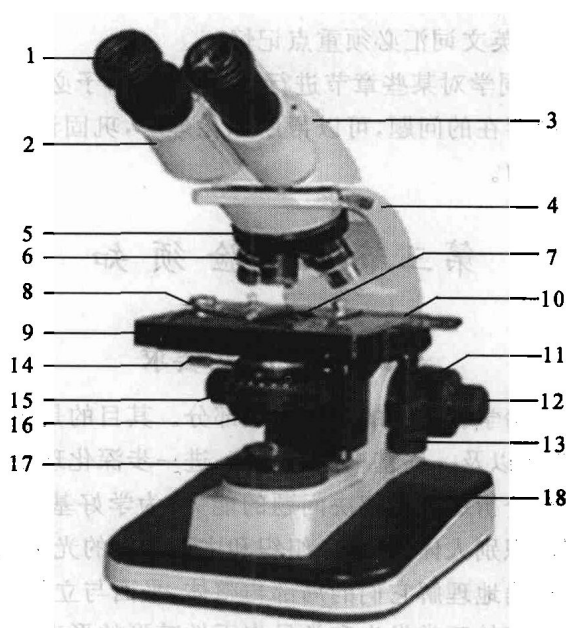


图 1-5 一种双目斜筒式显微镜的结构图

1. 目镜;2. 目镜筒体;3. 防尘盖;4. 镜臂;5. 物镜转换器;6. 物镜;7. 通光孔;8. 标本夹;9. 载物台;10. 载物台控制器;11. 聚焦粗调钮;12. 聚焦细调钮;13. 机动载物台控制器;14. 聚光器定心螺杆 15. 聚光器聚焦旋钮;16. 聚光镜;17. 光源聚光器调整旋钮;18. 镜座

1. 机械部分 具有支持和调节光学部分的作用,主要包括镜座、镜臂、载物台、镜筒、物镜转换器和调焦装置等。

(1)镜座:又称底座,用以稳定和支持显微镜。

(2) 镜臂: 又称镜架, 中部稍弯, 供握持显微镜用。

(3) 载物台: 又称工作台, 供放标本的平台, 中央有一圆孔, 台上有标本夹或标尺移动器。

(4) 镜筒: 有直立式和倾斜式, 又有单镜筒和双镜筒两种。上端装有目镜, 下端装物镜转换器 and 物镜。

(5) 物镜转换器: 是固定物镜并可旋转安装定位的圆盘, 便于更换物镜, 以改变物镜的放大倍数。

(6) 调焦装置: 可升降镜筒或载物台, 以调节观察标本的焦点, 包括粗调节器和细调节器。粗调节器: 旋转 1 周, 可使镜筒或载物台升降约 10mm, 多用于低倍镜观察; 细调节器: 旋转 1 周, 可使镜筒或载物台升降约 0.1mm, 多用于高倍镜观察。

2. 光学部分 主要包括目镜、物镜和聚光镜。

(1) 目镜: 即接近眼睛的光学系统部件, 连于镜筒的上端, 由接目镜和会聚透镜组成。其作用是把物镜放大的实像进一步放大, 放大倍数一般为 5 倍、10 倍、16 倍等, 常用的为 10 倍。

(2) 物镜: 即面对被观察物的成实像的光学系统, 装在物镜转换器上, 由许多片不同焦距的凹凸透镜组成。其作用是把观察的物体做第一次放大, 放大率在 10 倍以下为低倍镜, 20 倍左右为中倍镜, 40 倍左右为高倍镜, 90~100 倍为油镜。

(3) 聚光镜: 由聚光镜和可变光栏组成, 其作用是使光线集中到所要观察的标本上, 使光线射入整个物镜。一般聚光镜的聚光点设计在它上端透镜平面的上方约 1.25mm 处, 以适应载玻片的标准厚度 ( $1.11 \pm 0.04$ mm)。光栏的大小可控制照明光线的强弱。

(4) 反光镜: 是一个一面平一面凹的圆形双面镜, 使用自然光源时用此镜, 其作用是改变光源射出光线的方向送至聚光镜中心。

## (二) 光学显微镜的主要性能

显微镜的主要性能包括分辨能力、放大率、清晰度、焦点深度和镜像亮度等。

1. 分辨能力 是指人眼在 25cm 的明视距离处, 或者是显微镜能分辨被检物体细微结构最小间隔的能力。如果两点能分辨清楚, 那么这两点的距离即为分辨能力, 也叫分辨本领。

2. 放大率 也称放大倍数, 显微镜的总放大倍数等于物镜放大倍数和目镜放大倍数的乘积。

3. 清晰度 指显微镜造成明视物像的能力。

4. 焦点深度 即景深, 当显微镜通过调焦看标本的某一点时, 不仅这一物点, 而且它的上下两侧也能看清楚, 能看得清楚的这两侧之间的厚度叫做焦点景深。物镜的放大倍数越高, 焦点深度越小。

5. 显微镜的视场 也叫视野, 是指所看到的被检标本的范围。显微镜视场的大小与总放大倍数成反比, 即放大倍数越高, 视场越小, 所看到的标本范围也越小。

6. 工作距离 当显微镜看清标本时, 物镜下沿到标本之间的距离叫工作距离。物镜倍数越高, 工作距离越小, 因此在使用高倍镜和油镜时应特别小心, 注意不可压坏物镜或玻片。

## (三) 显微镜的使用方法

1. 取镜 拿显微镜时要右手握镜臂, 左手托镜座。将显微镜轻置于实验台上身体的左前方, 以便右手做记录或绘图。

2. 对光 首先把低倍镜转到镜筒的正下方, 与镜筒成一直线, 然后升高聚光器, 打开光

栏,两眼同时睁开,用左眼观察目镜,调节反光镜直到视野内的光线明亮均匀为止,光线较弱时用反光镜的凹面进行采光。聚光器、光栏和反光镜的调节应根据镜检标本内容和光线强弱的具体情况随时调整。

3. 置片 将标本置于载物台上用玻片夹加以固定,把欲观察的组织移至圆孔的中心。注意盖玻片面要向上。

#### 4. 观察

(1)低倍镜:调节粗调节器,使低倍镜与标本基本相接触,再以左眼观察目镜,而后转动粗调节器,使载物台下降或物镜上升,直到视野内出现模糊图像时改用细调节器调到物像清晰为止。低倍镜下主要观察组织和器官的基本结构,待确定要详细观察的微细结构时,应将欲观察的结构调至视野中央,再转换到高倍镜下观察。

(2)高倍镜:在低倍镜观察的基础上,旋转物镜转换器,换上高倍镜,然后稍调节细调节器,就可看到清晰的物像。多数组织结构用高倍镜已可辨认,但有时必须使用油镜才能观察到欲观察的结构,把需要观察的部分用移动器移至视野中央。

(3)油镜:高倍镜下看清结构后,把聚光镜的光圈充分开大,并使聚光镜上升,然后在标本所要观察的部位滴1滴香柏油(注意用量不要太多,不要产生气泡,也不要使油滴散开),转动物镜转换器,换上油镜,侧面观察使油镜下端与玻片上的油滴充分接触,然后调节细调节器1~2转,即可看到高度放大的清晰物像。油镜用完后,立即用擦镜纸或脱脂棉蘸少许二甲苯将镜头及玻片上的镜油擦拭干净。

观察标本时,应练习两眼同时睁开,以减少视力疲劳,最好用左眼观察,右眼便于绘图和记录结果。以上对于初学显微镜的同学是必须遵守的操作规程。

#### (四)光学显微镜的维护与保养

显微镜的使用寿命,除了它本身的质量为决定因素外,使用者能否合理操作、注意维护和保养,讲究使用和贮存的环境等也是影响显微镜寿命的极其重要因素。因此,就要求使用者对显微镜的结构性能、操作方法及显微镜的防护知识(防尘、防霉、防潮、防腐蚀)具有一定程度的理解,这对于延长仪器使用寿命有重要意义。

1. 显微镜是精密的光学仪器,取送搬移时,要一手握镜臂,一手托镜座,轻拿轻放,避免碰撞。

2. 使用时,要严格按操作程序,正确地缓慢移动有关螺旋,细调节器必要时才使用,且不宜大幅度转动。

3. 为了保持显微镜各部件的性能,应避免阳光直接照射,以免目镜、物镜脱胶而损坏。要放置在阴凉、干燥、无灰尘、无挥发性化学药品的地方。

4. 所有镜头均经校验,棱镜、目镜表面有一层镀膜,以降低光线反射,改善光线透射率和成像的比度,此种镜面,切勿自行拆卸或用口吹,用手指抹擦。如有灰尘,可用软毛刷、吸耳球或擦镜纸揩去。沾有污物时,可用脱脂棉蘸少量二甲苯或乙醚乙醇(1:3)混合液,由透镜的中心向外轻拭,以免磨损镜头。

5. 不要随便把目镜从镜筒中取出,以免灰尘落入棱镜或物镜上,不用时应盖上防尘罩。

6. 用完油镜后,应用擦镜纸或脱脂棉蘸二甲苯,将镜头和标本切片擦拭干净,以免镜油长期浸泡而起气泡,吸收水分使折射率改变,令油镜解像力下降,而损伤镜头。

7. 机械部分应保持顺利灵活,无停滞现象,必要时可在滑动部分涂抹优质润滑油。

#### (五)光学显微镜主要技术参数

1. 物镜 见表 1-1。

表 1-1 物镜的主要技术参数

| 物镜           | 系统 | 数值孔径(NA/ $\mu\text{m}$ ) | 工作距离(mm) |
|--------------|----|--------------------------|----------|
| 10 $\times$  | 干  | 0.25                     | 6.3      |
| 40 $\times$  | 干  | 0.65                     | 0.5      |
| 100 $\times$ | 油  | 1.25                     | 0.1      |

2. 目镜 见表 1-2。

表 1-2 目镜的主要技术参数

| 目镜          | 焦距(mm) | 线视场(mm)   |
|-------------|--------|-----------|
| 5 $\times$  | 50     | $\phi 20$ |
| 10 $\times$ | 25     | $\phi 18$ |
| 16 $\times$ | 15.6   | $\phi 11$ |

3. 目镜与物镜配合 见表 1-3。

表 1-3 目镜与物镜的放大倍数

| 总放大倍数  |             | 物 镜          |              |                |
|--------|-------------|--------------|--------------|----------------|
| 目<br>镜 | 5 $\times$  | 10 $\times$  | 40 $\times$  | 100 $\times$   |
|        | 10 $\times$ | 50 $\times$  | 200 $\times$ | 500 $\times$   |
|        | 16 $\times$ | 100 $\times$ | 400 $\times$ | 1 000 $\times$ |
|        |             | 160 $\times$ | 640 $\times$ | 1 600 $\times$ |

### 四、光镜标本的观察

光镜观察组织标本是组织学实验中的主要内容。由于所观察的组织标本绝大部分是石蜡切片,HE 染色制成的,所以常把组织标本统称为组织切片。现把光镜下观察组织标本应注意的几个问题阐述如下。

1. 制片与染色方法 观察前应了解每张组织标本的制片方法和染色方法。因为同一结构应用不同的染色方法,所显示的颜色不相同,而一种染色方法不可能显示标本中细胞或组织的所有结构,必须通过多种相应的染色方法来加以补充和完善(见一般光学显微镜技术)。

2. 切面与立体的关系 理论课总是以全面和立体的观点进行讲解,但在组织切片标本上却是一幅切面图像。例如脊神经节内神经元因切面不同,所观察到的细胞形态结构也不同,然而很难在一个视野中看到全部结构。因此,观察切片时应联系组织结构的切面方向,边移动、边观察、边思考,并联想到切面与立体和整体的关系(图 1-6)。

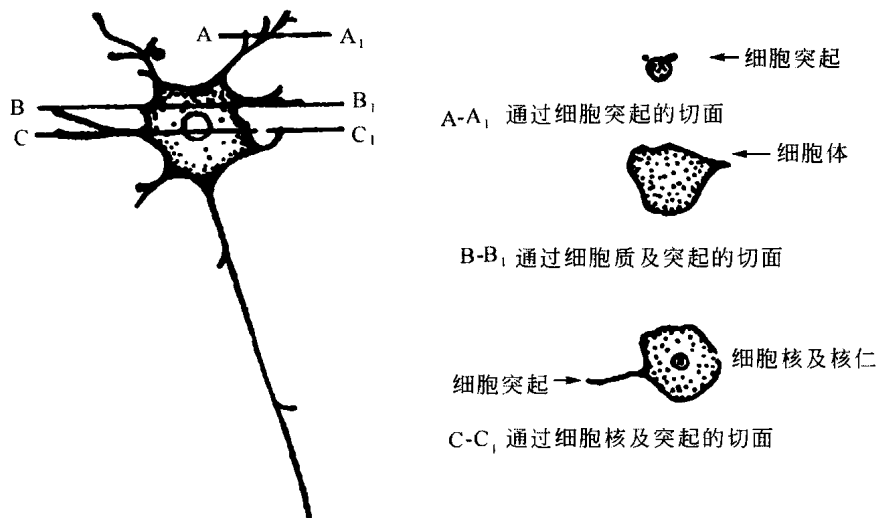


图 1-6 神经细胞的各种切面

3. 全面与重点观察 观察组织切片时应先用肉眼观察一下标本的大致情况,例如切片中标本的数目、实质性器官或中空性器官、皮质与髓质等。然后用低倍镜辨明组织或中空性器官的层次,实质性器官的皮质与髓质或某些结构单位,同时应注意切片的切面方向。接着换高倍镜观察能代表该组织或器官的特征性结构,必要时可更换油镜进行更微细的观察。总之,观察组织标本时,应以低倍镜观察其全面结构,用高倍镜着重观察其特征性结构。

4. 循序与对比观察 观察组织切片时要根据组织器官的结构规律而逐步观察。例如观察细胞时,先看细胞外形、大小、排列规律,再看细胞核的位置、大小、形状、嗜色性及核仁情况,最后看胞质多少、嗜色性、细胞器及胞质内特殊结构。观察实质性器官则先看被膜,再看皮质和髓质或实质和间质,最后看其特征性微细结构。观察中空性器官则从内向外先辨层次,后看特征性结构,尤其是抓住最内面一层上皮组织的结构特征就能辨别它属于哪个系统、何种器官。但是同一系统内各器官的组织结构有其共性,也有其各自的特殊性,例如消化管壁都有 4 层结构,但只要抓住各段的结构特点来分析比较就能把食管至直肠的每个器官一一加以鉴别。因此,观察组织切片时既要循序渐进的全面观察,又要抓住其特殊性进行综合分析比较。

5. 形态与功能联系 在观察切片标本中,同一种器官可因功能状态不同而出现其结构上的差异,例如甲状腺滤泡上皮有扁平状、立方形或低柱状等形态。同样,观察任何一种细胞、组织或器官的组织结构时,一定要联想其功能。没有功能的结构是不存在的,有其结构必定有相应的功能。

6. 人工伪像的识别 活细胞或活组织在制片过程中会受到某些因素的影响,例如脂肪细胞脂滴被溶后形成空泡;软骨细胞的皱缩现象,组织结构之间的裂隙以及染料残渣、刀痕、气泡等都属于人工伪像,观察时要加以识别。