

“十一五”规划精品课程教材
全国高等医药院校教材
供基础、临床、护理、预防、影像、检验等专业用

形态实验学

主 编 黄庆红 欧阳录明 杨志英 谢 明 陈晓岚

副主编 李石旺 谢应桂

主 审 陈家玉 王晓萍

编 者 (按姓氏笔画排序)

王建钧 阳 帆 李石旺 汤银娟 陈 芬

陈晓岚 杨志英 周 君 罗 辉 赵文健

胡永轩 胡江辉 莫艳秀 黄庆红 黄存嫦

曹艳华 谢 明 谢应桂 欧阳录明

世界图书出版公司

西安 北京 广州 上海

图书在版编目(CIP)数据

形态实验学/黄庆红等主编. —西安:世界图书出版
西安公司, 2008. 8

ISBN 978 - 7 - 5062 - 9887 - 2

I. 形... II. 黄... III. 人体形态学 - 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 126447 号

形态实验学

主 编 黄庆红 欧阳录明 杨志英 谢 明 陈晓岚
责任编辑 汪信武

出版发行 世界图书出版西安公司
地 址 西安市北大街 85 号
邮 编 710003
电 话 029 - 87285225 87285507 87285879
029 - 87235105(总编室)
传 真 029 - 87285817
经 销 各地新华书店
印 刷
开 本 889 mm × 1194 mm 1/16
印 张 10.25
字 数 330 千字
彩 页 16
印 数 1 ~ 4000 册

版 次 2008 年 8 月第 1 版
印 次 2008 年 8 月第 1 次印刷
I S B N 978 - 7 - 5062 - 9887 - 2
定 价 28.00 元

第一篇 形态实验学基本知识

第一章 绪 论

第一节 概 述

形态实验学是从组织学、胚胎学、病理学、病原生物学的实验教学中衍生而来,用整合的思想将有关形态的理论和实验技能进行有机的结合,形成的一门独立的学科。其主要任务是通过各种实验观察构成人体的细胞、组织、胚胎的形态结构,观察引起机体产生各种疾病的病原生物的形态结构以及各种疾病所致的系统器官的病理变化。其目的在于通过实验,熟悉了解形态实验学的常用仪器设备,掌握形态实验学常用的方法和技能,验证和巩固理论知识,从形态学方面对人体的正常结构到病理变化和引起变化的病原生物有一个比较全面系统的了解。在此基础上培养学生进行创新性的设计实验,形成科学的思维方法,提高分析问题和解决问题的能力。

第二节 形态实验学的目的与要求

(1)掌握形态实验学的基本理论和基本实验技能,熟悉形态实验常用仪器设备的正确使用和基本维护。

(2)重视实验课程,培养认真操作、仔细观察、准确记录、正确分析结果的科学作风。

(3)学会运用比较、分析和综合的科学方法,提高分析问题和解决问题的能力。

(4)培养自主求知和探索的欲望,强化创新意识。

(5)在实验课程结束时,应圆满完成实验大纲规定的学习任务。

第三节 实验报告书写

实验报告是学生完成实验后对实验进行的文字总结,学生应以实事求是的科学态度书写实验报告,书写的主要内容包括以下几个方面。

1. 基本情况 实验者姓名、年级、专业、班级、组别、学号,实验日期,科目。

2. 实验名称 例如,革兰染色法、寄生虫学病原检查、心肌组织观察等均为具体的实验名称。

3. 实验目的及要求 实验内容不同其实验目的和要求也不同,通常是通过实验拟解决什么问题、达到什么目标、收到什么效果等,简单归纳成几条。

4. 实验原理 简要叙述实验的基本理论和基础知识。

5. 仪器设备和材料试剂 列出实验必须使用的仪器设备名称、型号、数量、性能要求,实验中使用的主要材料、试剂名称等。

6. 实验动物 对实验动物的描述应包括种属、名称、性别、体重、健康状况。

7. 实验方法和步骤 应简明扼要叙述主要的实验方法、实验技术和操作顺序(步骤),不要一字不漏的照教材抄写。

学习记录

8. 实验结果 实验结果是实验报告中重要的部分。根据实验目的,将实验过程中对观察到的现象所作的原始记录(包括笔记、图像、仪器输出的打印结果)进行归类,条理化、系统化整理和计算处理,实验结果应客观真实。描述实验结果分为文字和数据两个方面,尽量做到图文并茂,使人一目了然。

9. 结果分析与讨论 分析与讨论是利用所学理论知识解释实验现象和结果,要重点说明因果关系、一般性规律与特殊性规律之间的关系,同时对实验中出现的“异常现象”加以分析。

10. 实验结论 实验结论是根据实验结果揭示的事实回答实验提出的问题,应简明扼要,高度概括,符合逻辑。

(欧阳录明 黄庆红)

第四节 绘图要求

形态学实验过程中,绘图是一项重要的基本技能训练,通过绘图记录能加深对所学知识的理解和记忆,并能训练绘图技巧。

1. 显微图像(切片或涂片)绘图要求

(1)在全面观察的基础上,选择有代表性或结构典型的部位,尽可能描绘出一部分能概括整个组织或器官的主要内容。

(2)绘图必须实事求是,看到什么内容就绘什么,要注意各种结构之间的大小比例、位置及颜色,正确地反映镜下所见,不能凭记忆或照图谱摹画。

(3)准备工作:准备好绘图纸、红蓝铅笔、普通铅笔、直尺、橡皮等,绘图铅笔应在课前削成流线形比较好用。

(4)预览设计:首先用低倍镜观察组织或病变组织的基本结构,确定所要绘图的部位,然后用高倍镜仔细观察细微的病变、细胞的形态,确定绘图的目标,同时进行构图设计。按照老师的要求(表达内容、倍数)设计图面的规格(长方形或圆形、大小比例)。显微镜放大一般分为低倍($100\times$)、中倍($250\times$)和高倍($400\times$)。图形一般为正方形,各种细胞一般参照红细胞或淋巴细胞(比较常见,容易找到)大小,确定相应的比例,才不致失真,比如把单核细胞画得比淋巴细胞还小,就不真实。

(5)铅笔用法:绘图要用红蓝色笔,在HE染色切片中细胞核和嗜碱性颗粒等要用蓝色笔,细胞质和嗜酸性颗粒等用红色笔分别绘画。绘图铅笔根据需要可有不同用法。绘制组织轮廓及线条可用拿钢笔的姿势,画纤维素可用较细的线条表示,而胶原纤维则较粗大;绘制各种颗粒或碎屑,可用拿毛笔的姿势,如色素颗粒比较细小,而坏死碎片略不规则,画低倍镜下的红细胞或细胞核,为使其圆满,可在点后旋转一下;绘制大片均匀的物质时,可用拿琴弓的姿势,用红铅笔在纸上涂抹出相应范围的坏死物、玻璃样变性、蛋白管型、水肿液等。简单地说,用两种颜色(红、蓝)、三种手法(线、点、涂),即可进行绘图。

(6)绘图类型:一般要求绘制写真图,即用素描的方法,如实反映镜下所见。有时要求在理解的基础上绘制模式图,如各种炎细胞,或将分散的不典型的病变进行抽象概括画一张综合图,如肿瘤细胞的异型性,可根据具体情况灵活掌握。

(7)绘图程序:在详细观察、认真构思的基础上,用红铅笔淡淡画出各种组织和细胞的轮廓,并注意其相互比例,力求反映出其组织学特征和病理学特征。如肝细胞脂肪变性(高倍图),既要能看出肝细胞索、肝窦,又要能看出肝细胞内圆形空泡(脂滴),才算得上合格。在构图基本满意后,再逐渐加重笔力,使轮廓清晰起来,然后再进行修饰。如水肿液可用红铅笔涂成淡红色,红细胞涂成深红色,白细胞核画成分叶状,淋巴细胞核画成深蓝色,间质中的一些成分也依次添上,使图渐臻完美。画图时一定要注重构思,轻描轮廓,由浅入深,循序渐进。如果一出手就落笔重,颜色深,则难以修改。

绘图后必须用黑铅笔在图右侧画出多条引线,进行标注及注明各种结构名称,标线要平行整齐,不要交叉或随便拉线。图内一端是要注明的成分,图外一端为说明文字,也可以是编号,在图下方依次说明。

(8)图下方要注明所观察的标本名称(或病理诊断、细菌种类等)、取材材料、染色方法、放大倍数和日期等。

2. 大体标本绘图 大体标本绘图一般为线条图,将标本置于明视距离 20 cm 左右处,在绘图纸上画一视平线,再画一条垂直虚线,标明尺寸,然后测量标本尺寸,按比例放大或缩小,在预定位置画出轮廓,逐步修正,定稿后再加深线条。如果要体现标本的立体感,可从视平线上或视平线以外选择一个焦点,由此点画数条虚线,与标本图的数个凹凸点相连,按照标本的厚薄截取适当长度,画出标本的侧面。必要时加上疏密不等的小点或线条(直线或曲线),以衬托其立体感及光泽度。

附 组织学及病理学绘图及实验报告举例

1. 组织学实验报告举例

实验二 上皮组织	
实验目的与要求:	
实验内容:	
绘图:	
<div style="border: 1px solid black; width: 100px; height: 40px; margin: 0 auto; display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> 画图位置 </div>	
名称:单层柱状上皮	
取材:狗胆囊	
染色:HE	
放大倍数:10×40	
日期:2008年3月8日	
分析:	

2. 病理学实验报告举例

实验二 损伤与修复	
目的与要求:	
实验内容:	
绘图:	
<div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> <div style="border: 1px solid black; width: 80px; height: 40px; display: flex; align-items: center; justify-content: center; margin-right: 10px;"> 图 </div> <div style="margin-left: 10px;"> <p>← 新生毛细血管</p> <p>← 成纤维细胞</p> <p>← 炎细胞</p> </div> </div>	
切片名称:肉芽组织	
放大镜倍数:目镜×物镜	
染色:	
分析:	

(黄存嫦 陈晓岚 黄庆红)

学习记录

第五节 实验室规则

实验室是教学、科研的重要场所和仪器设备较为集中的场地,为确保教学、科研的正常运行,营造一个清洁、文明、安全、舒适的实验环境,要求遵守如下规则:

(1)凡到实验室进行教学、科研活动的人员,必须根据教学计划和科研任务的要求,经实验室负责人同意后方可组织进行,校外人员做实验或参观,事先必须经过主管领导的批准。

(2)凡进入实验室,必须遵守纪律,爱护公物,保持室内肃静和清洁,严禁吸烟和随地吐痰。

(3)仪器设备未经主管人员同意不可随意动用,精密贵重仪器设备,不熟悉性能和操作方法者,不准使用。

(4)师生在实验室进行实验及研究工作,必须服从实验室主任和实验教师的安排,严格遵守实验室的规章制度和操作规程。

(5)严格安全措施,确保实验操作者的安全。对易燃、易爆、剧毒物品,应指定专人保管,严格控制用量,严格按操作规程作业。妥善处理“三废”,严禁将危险物品带出实验室。

(6)仪器、设备和器材建立账、卡,保持账、物、卡相符,按照不同类别和要求严加管理,做好维护保养工作。凡外借仪器须经主管领导和实验室主任同意后方可,仪器设备丢失或引发事故时,应立即报告主管部门领导,以便及时处理。

(7)实验室不得存放任何与实验室无关的物资,保持室内整洁。实验后关好门窗、水龙头,切断电源,做好值班记录和交接班工作。

第六节 学生实验守则

(1)学生实验必须严格遵守实验室的规章制度。实验室内必须肃静、整洁,不得高声喧哗,随便走动,进入实验室注意仪表形象,穿好白大衣,严禁赤膊、穿背心、穿拖鞋进入实验室。

(2)按照实验分组入室就座,实验组长负责领取并归还实验器材,显微镜由本人从显微镜室领取并归还,不得擅自拆卸和更换显微镜的部件。

(3)学生实验前务必做好预习工作,明确实验目的、原理、实验内容和基本操作要求,做到心中有数。

(4)认真倾听带教老师的讲解,仔细观察老师的示范操作。实验开始时,经指导教师确定认可后,才能做实验。

(5)实验过程中,严格按照实验步骤的要求进行操作,坚持实验的严肃性、严格性、严厉性。

(6)仔细观察,真实地记录实验数据和结果,对错误的结果要认真了解,找出原因,得出结论。不得马虎从事,不准修改原始记录。

(7)防止各种事故发生。如在病原生物学实验中发生割破皮肤及实验材料破损事故,应立即报告教师,进行紧急处理,皮肤破损可用2%碘酒消毒,污染桌面、地面和物品可用3%来苏儿消毒。易爆品(乙醇、二甲苯)不要靠近火源,如遇火险,先关掉电源,再扑灭火焰。

(8)使用后的仪器、设备交指导教师检查后,放回原位并清扫实验现场,经指导教师同意后方可离开实验室。如有损坏仪器、设备、器皿、工具者,应主动说明原因并接受检查,按规定填写报废单或损坏情况说明并酌情赔偿。

(9)实验结束后,将实验台收拾整齐,擦净桌面,再洗手消毒后离去。值日生搞好室内卫生,并检查水电开关是否关好,防止发生安全事故。

(10)及时准确地填写《实验教学日志》及《仪器设备使用登记表》。

(11)认真写好实验报告并及时上交指导老师批改。实验报告不允许互相抄写。

(欧阳录明)

第二章 常用实验仪器设备介绍

医学形态学是实验性很强的医学基础学科,所以必须加强医学形态学的实验教学工作。必要的实验设备和实验条件是搞好医学形态学实验教学的基础。本章简要介绍医学形态学实验的一些常用仪器设备的构造、原理、操作方法及注意事项。

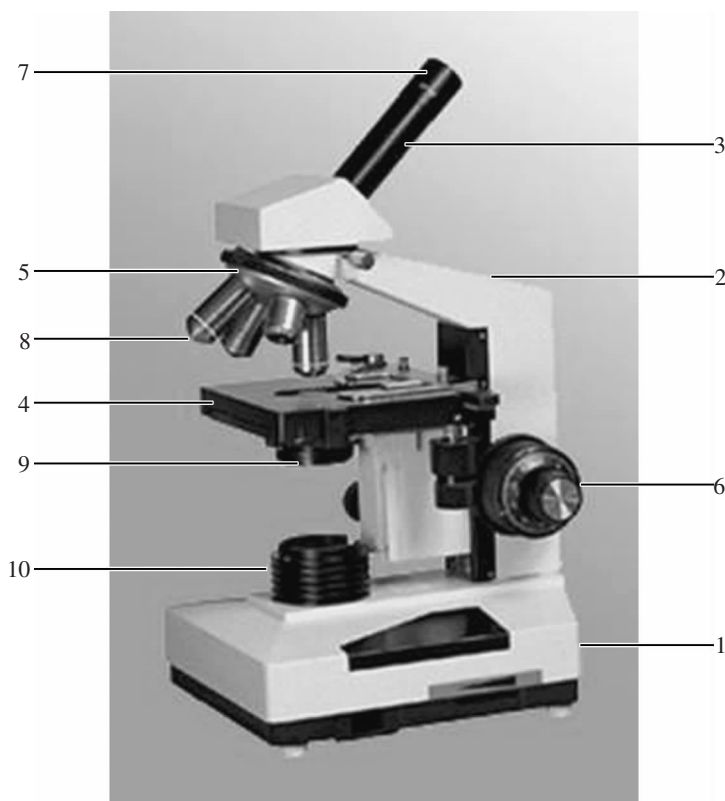
第一节 普通光学显微镜

普通光学显微镜(简称显微镜)是形态学实验的主要仪器。了解显微镜的构造,正确而熟练地使用是基本技能之一。

一、显微镜的构造

显微镜由机械部分和光学部分组成。

1. 机械部分(图 1-2-1) 具有支持和调节光学部分的作用。



1. 镜座 2. 镜臂 3. 目镜 4. 载物台 5. 物镜转换器 6. 粗、细调节螺旋
7. 目镜 8. 物镜 9. 聚光器 10. 反光镜

图 1-2-1 显微镜的构造

(1)镜座:又称底座,用以稳定和支持显微镜。

学习记录

(2)镜臂:又称镜架,中部稍弯,供握持显微镜用。

(3)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。

(4)载物台:又称工作台,供放置标本的平台,中央有一圆孔,台上有移动器。

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

(6)粗、细调节器:可升降物镜或载物台,以调节物镜和切片之间的距离。粗调节器:旋转1周,约可使镜筒或载物台升降10 mm,多用于低倍镜观察;细调节器:旋转1周,约可使镜筒或载物台升降0.1 mm,多用于高倍镜和油镜观察。

2. 光学部分

(1)目镜:即接近眼睛的光学部件,位于镜筒的上端,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 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $16\times$ 等,常用的为 $10\times$ 。

(2)物镜:即面对被观察物的成实像的光学部件,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 $10\times$ 以下为低倍镜, $40\times$ 左右为高倍镜, $90\sim 100\times$ 为油镜。

(3)聚光器:由聚光镜和光圈组成,其作用是把光线集中到所要观察的标本上,使光线射入物镜。一般聚光镜的聚光点设计在它上端透镜平面的上方约1.25 mm处,以适应载片的标准厚度($1.11\text{ mm}\pm 0.04\text{ mm}$)。光圈开启的大小和聚光器的高低可控制照明光线的强弱。

(4)反光镜:是一面平一面凹的圆形双面镜,其作用是改变光源射出光线的方向并送至聚光镜中心。采用自然光源时用平面镜,采用人工光源时用凹面镜。

二、显微镜的主要性能

1. 分辨能力 是指人眼在25 cm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 即放大倍数,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,当显微镜通过调焦观察标本的某一点时,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. 视野 也叫视场,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,不要压坏物镜或载片。

三、显微镜的使用方法

1. 取镜 取拿显微镜时要右手握镜臂,左手托镜座,将显微镜放置于左胸前方,轻拿轻放,避免碰撞。

2. 对光 首先把显微镜放在胸前略左距离台面边缘10 cm的位置上,将低倍镜转到镜筒的正下方,然后升高聚光器,打开光圈,两眼同时睁开,用左眼看目镜视野,调节反光镜直到视野内的光线均匀明亮为止。光线较弱时用反光镜的凹面进行采光。调节聚光器高度、光圈开闭程度和反光镜的角度能影响视野内光线的强弱,视情况而调整。

3. 置片 将标本片置于载物台上,用片夹固定好(标本片有正反面之分),把要观察的部位移至圆孔的中央。

4. 调焦

(1)低、高倍镜使用 ①使用显微镜时必须端坐,座位高低要适当。②先将低倍镜转到工作位置,对好光。③将标本片在载物台上放置好后,将欲检部位移至低倍镜下,缓慢转动粗调节器使低倍镜与标本片距离达到最短,然后以反方向转动粗调节器,使载物台下降或物镜上升,直到视野内出现模

糊图像时才改用细调节器调到物像清晰为止。④高倍镜观察时,将已经调好焦距的低倍镜直接转换为高倍镜,然后稍微调节细调节器,即可看到清晰的物像。⑤观察标本时应两眼同时睁开,以减少眼的疲劳,用左眼窥镜,右眼书绘。

低倍镜主要观察组织和器官的基本结构,所以观察要全面,待确定要详细观察的微细结构后,才将其调至视野中央,以高倍镜观察之。多数组织结构用高倍镜已可辨认,但有些结构必须使用油镜才能观察清楚。

(2)油镜使用:①先用低倍镜对光(光线宜强,应将光圈完全打开并升高聚光器,用反光镜凹面采光使视野光线饱满均匀);②置好片后在标本片欲检部位滴一滴香柏油(油量不能多,也不要涂开)然后转换油镜;③浸油时,眼在镜侧面观察,缓慢转动粗细调节器,使油镜头浸入油滴内,当油镜头几乎接触玻片时停止转动;④调焦时,左眼观察视野,以浸油相反的方向缓慢调节粗细调节器,待看到模糊物像时,再用细调节器来回小幅调节,即可清晰地看到物体的形态与结构;⑤油镜去油时,用擦镜纸或脱脂棉蘸少许二甲苯或乙酸乙酯将镜头及玻片上的香柏油轻轻擦拭干净。

使用油镜头加香柏油的原理:油镜放大倍数高而透镜很小。自标本片透过的光线,因玻片和空气介质密度不同而折光率不同,因此,有些光线经载玻片和空气折射后不能进入接物镜,或射入光线很少,使物像不清晰。在油镜和标本片之间滴加与玻璃折光率($n = 1.52$)相仿的香柏油($n = 1.515$),则使进入油镜的光线增多,视野光亮度增强,物像清晰。

四、显微镜的维护保养

(1)显微镜细调节器最精密,容易磨损而失灵,要重点保护尽量少用,在粗调节器没有找到物像前,不要盲目地使用细调节器,严禁以细调节器来代替粗调节器直接找物像。

(2)不要随便把目镜镜头取下,以免灰尘落入棱镜或物镜上,不用时应盖上防尘罩。

(3)用完油镜后,应用擦镜纸或脱脂棉蘸二甲苯或乙酸乙酯,将镜头和标本片擦拭干净,以免香柏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,损伤镜头。

(4)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。应放置在阴凉、干燥、无灰尘、无挥发性化学物质的地方。

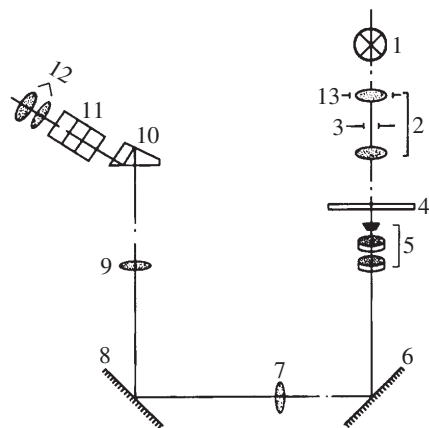
(陈芬 欧阳录明)

第二节 倒置显微镜

1. 原理 倒置显微镜采用柯拉照明方式,其光路原理见图1-2-2。柯拉照明系统的光源发出的光线通过聚光器后照亮标本。标本经物镜组、转像系统后成像在目镜的物方焦平面上。人眼通过目镜即可进行观察。适用于生物学、医学等领域中的组织培养、细胞离体培养、浮游生物、环境保护、食品检验等显微观察。

2. 结构 倒置显微镜结构(图1-2-3)与普通显微镜的主要区别在于:

(1)倒置显微镜的照明系统位于载物台之上,而物镜组则位于载物台之下。与普通显微镜正好相反。倒置由此得名。倒置显微镜目镜和镜筒的纵轴与物镜的纵轴呈 45° 角。



1. 光源 2. 聚光器 3. 孔径光栅 4. 标本 5. 物镜组
6~11. 转像系统 12. 目镜 13. 视场光栅

图1-2-2 倒置显微镜光路原理图

学习记录

(2)倒置显微镜由于使用场合的特殊性,常配有长工作距的平场消色差物镜,以适应不同容器的安置(如培养皿、培养瓶、试管、烧杯和烧瓶等)。

(3)相板插孔可插入相板,做相差观察之用。

3. 使用方法

(1)接通电源,根据使用目的,调节灯泡亮度。

(2)如目镜为双筒,可先调整双目镜之间的距离,使之与观察者两瞳孔距离相适应。转动目镜调节圈,以取得较好的成像质量并与摄影取景达到同步聚焦。

(3)调节聚光器,使其处于定位位置并固定。将待观察标本放置在载物台上,关闭视场光栅,调节聚光器升降,使目镜中同时看到标本和视场光栅的像,此时工作距即为27.4 mm的柯拉照明器。若培养瓶高度超过27.4 mm,可把聚光器转离光路以获得更长工作距离的照明系统。

(4)旋转调节螺丝,使视场中心与目镜视场中心重合。

(5)打开视场光栅,使其略大于目镜视场,拨动孔径光栅,调节至满意的程度。

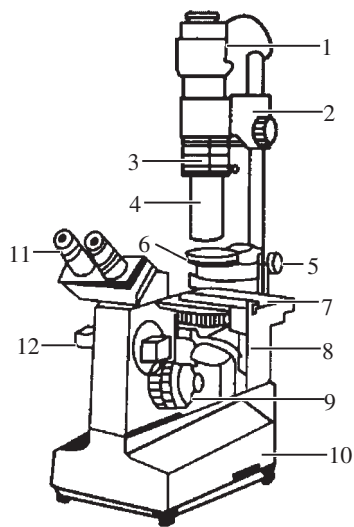
(6)酌情选用滤光片,调节目镜使成清晰图像。

4. 注意事项

(1)物镜的设计常用一定厚度玻片校正像差,在使用时要求培养瓶底、盖玻片或载玻片厚度与校正像差玻片厚度一致,否则将影响物镜成像质量,放大倍数越大,影响也越大。

(2)所用培养瓶底、盖玻片和载玻片要求光洁。

(3)倒置显微镜一般均有相差显微镜的功能,做相差观察时,应插入相板并换上相差物镜。做普通观察时,则必须抽去相板并接上普通物镜。否则,将影响成像质量。



1. 灯箱 2. 灯箱支臂 3. 滤光片夹持孔
4. 辅助聚光镜筒 5. 聚光器调节钮
6. 聚光器 7. 载物台 8. 物镜旋转器
9. 聚焦钮 10. 底座 11. 双目镜
12. 位相安置板

图 1-2-3 倒置显微镜结构

(杨志英)

第三节 电子显微镜

1. 原理 电子显微镜是根据电子光学原理,用电子束和电子透镜代替光束和光学透镜,使物质的细微结构在非常高的放大倍数下成像的仪器。

电子显微镜的分辨能力以它所能分辨的相邻两点的最小间距来表示。现在的电子显微镜最大放大倍率超过300万倍。因此,通过电子显微镜就能直接观察到某些重金属的原子和晶体中排列整齐的原子点阵。

2. 构造 电子显微镜由镜筒、真空系统和电源柜三部分组成,它的分辨能力虽然远胜于光学显微镜,但电子显微镜因需在真空条件下工作,所以很难观察活的生物,而且电子束的照射也会使生物样品受到辐照损伤。其他的问题,如电子枪亮度和电子透镜质量的提高等问题也有待继续研究。

3. 操作方法简介

(1)安装标本 将玻片放在载物台上,注意有盖玻片的一面一定朝上。用弹簧夹将玻片固定,转动平台移动器的旋钮,使要观察的材料对准通光孔中央。

(2)调焦 调焦时先旋转粗调焦旋钮慢慢降低镜筒,并从侧面仔细观察,直到物镜贴近玻片标本,然后左眼自目镜观察,左手旋转粗调焦旋钮抬升镜筒,直到看清标本物像时停止,再用细调焦旋钮回

调清晰。

(3)观察 若使用单筒显微镜,两眼自然张开,左眼观察标本,右眼观察记录及绘图,同时左手调节焦距,使物像清晰并移动标本视野。右手记录、绘图。

(谢 明)

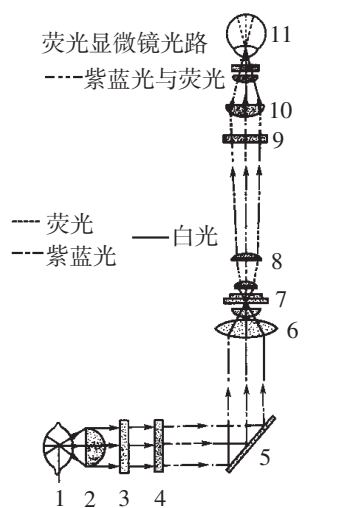
第四节 荧光显微镜

一、原 理

荧光色素染色的标本,经荧光光源发出的激发光照射,吸收了激发光的能量,辐射出比激发光波长较长的荧光,通过荧光显微镜即可观察经过光学系统放大的荧光图像。荧光显微镜与普通显微镜的主要区别在于普通显微镜的光源只起照明作用,观察的是标本的本色。而荧光显微镜所用光源不是作为照明用的,而是作为激发光,激发荧光色素产生荧光,观察的是荧光图像。

二、结 构

荧光显微镜是免疫荧光细胞化学检测的基本工具,由光源、滤板系统和光学系统等主要部件组成(图1-2-4,图1-2-5)。



1. 光源 2. 荧光透镜 3. 吸热滤镜
4. 激发滤镜 5. 反射镜 6. 聚光镜
7. 标本 8. 物镜组 9. 阻断滤镜
10. 目镜组 11. 眼睛

图1-2-4 荧光显微镜光学原理

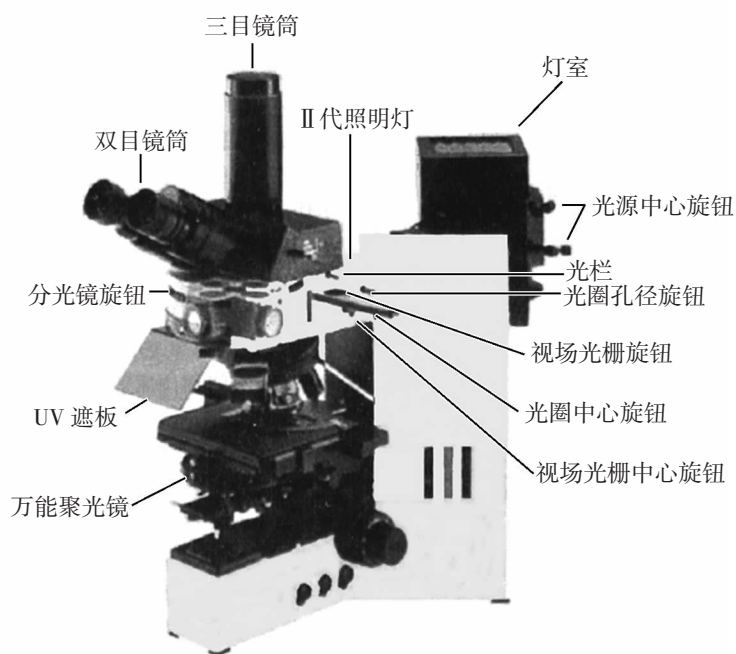


图1-2-5 荧光显微镜

1. 光源 荧光显微镜一般采用100 W或200 W的超高压汞灯作为光源。超高压汞灯是用石英玻璃制作,中间呈球形,内充一定数量的汞,工作时由两个电极间放电,引起水银蒸发,球内气压迅速升高,当水银完全蒸发时,可达5066.25~7092.74 kPa(50~70个标准大气压),这一过程一般约需5~15 min。超高压汞灯在灯室上有调节灯泡发光中心的系统,灯泡球部后面安装镀铝的凹面反射镜,前面安装有集光透镜。此外,还可用氙灯、卤素灯做荧光光源,还可兼用于明视场的彩色显微摄影。

2. 滤色系统 滤色系统是荧光显微镜的重要部位,由激发滤板和吸收滤板组成。滤板型号,各

学习记录

厂家名称常不统一。滤板一般都以基本色调命名,前面字母代表色调,后面字母代表玻璃,数字代表型号特点。用于荧光显微镜的主要滤板,请参阅说明书。

3. 反光镜 反光镜的反光层通常是镀铝的,因为铝对紫外光和可见光的蓝紫区吸收少,反射率达90%以上,而银的反射只有70%;一般使用平面反光镜。

4. 聚光镜 荧光显微镜的聚光器是用石英玻璃或其他透紫外光的玻璃制成,有明视野、暗视野和相差等三种聚光器。

5. 物镜和目镜 各种物镜均可应用,但最好用消色差的物镜和目镜。由于在显微镜视野中成像的荧光亮度与物镜口径率的平方成正比,而与其放大倍数成反比,因此,对于荧光弱的标本可用低倍目镜(如 $5\times$)配合口径率大的物镜来提高观测亮度。

6. 落射光装置 落射光装置是从光源来的光射到干涉分光滤镜后,波长短的部分(紫外光和紫光)由于滤镜上镀膜的性质而反射,当滤镜对向光源呈 45° 倾斜时,则垂直射向物镜,经物镜射向标本,使标本受到激发,而波长长的部分(绿、黄、红等)可直接通过滤镜,由于标本所激发的荧光处在可见光长波区,可透过滤镜而到达目镜观察。荧光图像的亮度随着放大倍数增大而提高,适用于不透明及半透明标本,如厚片、滤膜、菌落、组织培养标本等的直接观察。

三、使用方法

(1)接通电源,待数分钟后,灯光亮度即达最大和稳定。

(2)在光路上安装所需要的激发光滤镜和阻断滤镜。

(3)根据显微镜聚光器数值孔径调节反射镜与灯室间的距离。

(4)先用低倍镜观察标本,在视野中可见一直径约0.5 cm亮区,调节反射镜使亮区处于视野中央。

(5)根据观察目的,可转换高倍镜和油镜进行观察。

四、注意事项

(1)严格按照荧光显微镜出厂说明书要求进行操作,不要随意改变程序。

(2)应在暗室中进行检查。进入暗室后,接上电源,点燃超高压汞灯5~15 min,待光源发出强光稳定后,眼睛完全适应暗室,再开始观察标本。标本应集中检查,尽量减少开灯次数,以每次观察不超过3 h,每次点燃15 min以上为好。灯熄灭后欲再用时,须待灯泡充分冷却后才能点燃。天热时,应有散热降温措施。电源最好装稳压器,电压不稳不仅会降低汞灯的寿命,也会影响镜检的效果。

(3)灯泡须在灯室密封后点燃。在未加入阻断滤镜前,不能用肉眼直接观察,否则会损伤眼睛。

(4)标本染色后立即观察或拍照,以免发生荧光的衰减和淬灭现象。或将标本放在聚乙烯塑料袋中4℃保存,可延缓荧光减弱时间,防止封固剂蒸发。

(5)若使用油镜,应用“无荧光油”。若无此镜油,可用9:1稀释的化学纯甘油、流动石蜡或檀香油替代。

(6)载玻片厚度应在0.8~1.2 mm之间,太厚可吸收较多的光,并且不能使激发光在标本平面上聚焦。载玻片必须光洁,厚度均匀,无油渍或划痕,否则会出现杂乱的非特异性荧光。

(7)普通盖玻片厚度应在0.7 mm左右。为加强激发光,也可以采用特制的干涉盖玻片。

(8)标本不能太厚,太厚激发光大部分将消耗在标本下部,而物镜直接观察到的上部则不能得到充分的激发,而且太厚往往因细胞重叠而影响判断。

(杨志英)

第五节 显微图像系统

显微图像系统实为计算机配套系统辅助教学设备,它扩展了普通显微镜观察物像单一的功能,集图、文、声、像为一体,能满足成批学生生动形象地观察形态结构的需要,还能制作教学课件并可以刻录成光盘,既方便教学又便于学术交流,适用于信息量大、直观性要求高的形态学实验教学。

一、工作原理

光学显微镜下放大的实物图像,通过微型计算机采集转换成数字视频信号,经处理编辑后再由计算机输出,经过视频分配器到达终端显示器,显示出彩色图像,同时将教师讲解的声音经音频系统输送到终端。

二、系统组成

按设备功能及作用分为四部分。

1. 主机设备 微型计算机,内置视频采集卡。主要作用是采集转化储存视频信号,并能加工编排、拷贝光盘、主控视频信号的输出与播放。
2. 图像采集 摄像显微镜,扫描仪,拷贝机。
3. 信号输出 视频分配器,图像显示器,打印机。
4. 音响设备 话筒,功放机,喇叭。

三、使用方法

分为图像采集法,信息加工、编排制作法,教学播放法,这里着重介绍教学播放法。

1. 接通电源 教师在主控室将计算机、功放机、电源插头插好,并打开电源开关。学生在实验室将视频分配器、视屏显示器、喇叭电源开关打开。
2. 启动计算机 找出播放文件。
3. 播放图像并讲解 按计算机程序操作。
4. 播放结束 退出计算机程序操作。
5. 关闭电源 教师、学生各自关掉有关仪器设备的电源开关,拔掉电源插头。
6. 使用登记 教师在仪器设备使用登记本上做好记录。

(欧阳录明)

第六节 切片机

一、组织切片机

组织切片机是切制薄而均匀组织片的机械,组织用坚硬的石蜡或其他物质支持,每切一次借切片厚度器自动向前(向刀的方向)推进所需距离,厚度器的梯度通常为 $1\ \mu\text{m}$ 。切制石蜡包埋的组织时,由于与前一张切片的蜡边黏着,而制成多张切片的切片条。切片机的基本类型有五种,按其结构分为:摇动式切片机,轮转式切片机,滑动式切片机,推动式(雪橇式)切片机,冰冻切片机。

最常用的是轮转式切片机。轮转式切片机,系借转动手摇轮进行切片动作。蜡块台镶嵌于可在沟槽内上下移动的金属夹座中,借微动螺旋向前推进切出平整的切片。有的轮转式切片机的机头上装有三只旋钮和一个紧固旋钮能使其向各个方向偏转并紧固,便于调整蜡块的切面。切片刀的切制角度可以调整(切片刀倾斜)。由于这种切片机上使用的是一种重而大的切片刀,故除切制硬组织时

学习记录

一般不发生颤动。切片厚度借旋钮可以在 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ 之间调至任何厚度,每一梯度为 $1 \mu\text{m}$ 或 $2 \mu\text{m}$ 。轮转式切片机的优点是机体较重,故比摇动式切片机稳定,非常适于切制石蜡切片,可以理想地切制连续切片,亦可用以切制大组织块。

轮转式切片机的构成及使用:

1. 轮转式切片机的构成 石蜡切片机通常是指轮转式切片机。其构成包括 E 形持刀架,持刀架前后移动调节轮,持刀架左右移动手柄,持刀器角度设定和清除锁定装置,刀锋夹杆随意调节装置,切片刀防护杆,标准标本固定夹,标本修剪器水平调节装置,粗标本推进手轮,细标本推进手轮,切片厚度调节旋钮,切片厚度指示,手轮锁定装置,手臂托,切片机底座等部件。

2. 轮转式切片机的使用

(1)先将包好的组织蜡块黏着在木托或金属托上,然后将蜡块用标本固定夹固定。

(2)将待用的切片刀固定在持刀器上并锁定,用粗标本推进调节摇轮调整蜡块与切片刀的距离。

(3)旋转切片厚度调节旋钮设定切片厚度,一般为 $5 \sim 10 \mu\text{m}$,切片厚度指示即可显示相应的厚度。

(4)转动标本推进手轮,每转动一周,标本固定台就向切片刀侧移动相应厚度的距离,同时还垂直下降上升往返一次,于是得到一张相应厚度的组织切片。

(5)如手轮连续转动,就可获得一条连续的蜡带。

(6)取下一段蜡带,置于通过表面胶化处理的载玻片上,再通过展片器展片和烤片,展平的蜡带经烤片干燥并牢固地附着于载玻片后,即可进行染色。

二、冰冻切片机

未经中性福尔马林固定的组织,利用冰冻切片机将检体急速冰冻,可迅速制成近似石蜡切片的标本,以达到快速切片的目的,提供临床医师手术中所需资讯,以决定手术进行的方向。利用此方法制成的冰冻切片标本仍保存酵素活性和抗原性,所以在免疫组织化学染色或荧光抗体上,是不可缺少的重要方法。

操作方法及步骤:

(1)取材,未能固定的组织取材,不能太大太厚,厚者冰冻费时,大者难以切完整,最好为 $24 \text{ mm} \times 24 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$ 。

(2)取出组织支承器,放平摆好组织,周边滴上包埋剂,速放于冷冻台上冰冻。小的组织应先取一支承器,滴上包埋剂让其冷冻,形成一个小台后,再放上细小组织,滴上包埋剂。

(3)将冷冻好的组织块夹紧于切片机持承器上,启动粗进退键,转动旋钮,将组织修平。

(4)调好欲切的厚度,根据不同的组织而定,原则上是细胞密集的薄切,纤维多细胞稀的可稍为厚切,一般在 $5 \sim 10 \mu\text{m}$ 间。

(5)调好防卷板。制作冰冻切片,关键在于防卷板的调节上,这就要求操作者要细心、准确地将其调校好,调校至适当的位置。切片时,切出的切片能在第一时间顺利地通过刀与防卷板间的通道,平整地躺在持刀器的铁板上。这时便可掀起防卷板,取一载玻片,将其附贴上即可。

(6)应视不同的组织选择不同的冷冻度。冷冻箱中冷冻度的高低,主要根据不同的组织而定,不能一概而论。如:切未经固定的脑组织、肝组织和淋巴结时,冷冻箱中的温度不能调太低,在 $-10 \sim -15$ 左右;切甲状腺、脾、肾、肌肉等组织时,可调在 $-15 \sim -20$ 左右;切带脂肪的组织时,应调至 -25 左右;切含大量的脂肪时,应调至 -30 。

(谢明陈芬)

第七节 灭菌器

一、高压蒸汽灭菌器

1. 构造及原理 高压蒸汽灭菌器是利用压力饱和蒸汽对物品(如医疗器械、敷料、玻璃器皿、溶液培养基)进行迅速而可靠的消毒灭菌的设备。此种灭菌器为一个双层的金属圆筒,两层之间盛水,外层为坚厚的金属板,其上有金属厚盖,盖旁有螺旋,借以扣紧厚盖,厚盖与锅体之间为密封圈,使蒸汽不能外溢。灭菌器内装有带孔的金属隔板,用以放置待灭菌的物品。加热后,随着锅内蒸汽压力的升高,其温度也相应增高,从而达到使待灭菌物品灭菌的目的。锅内蒸汽压力与锅内温度的关系如表 1-2-1。

表 1-2-1 不同蒸汽压力所能达到的温度

蒸汽压力			温度()
磅/cm ²	kg/cm ²	kPa	
5	0.35	34.48	108.8
8	0.56	55.16	113.0
10	0.70	68.95	115.6
15	1.05	103.43	121.3
20	1.40	137.90	126.2
25	1.77	174.35	130.4
30	2.10	206.85	134.6

高压蒸汽灭菌盖上装有排气阀、安全阀,以调节灭菌器内蒸汽压力。有温度计及压力表,用于指示灭菌器内部的温度和压力。高压蒸汽灭菌器的外形结构如图 1-2-6。

2. 应用 为最常用的灭菌方法,一般以 101.33 kPa 维持 15 ~ 20 min 即可达到对物品进行灭菌的目的。凡耐高温和潮湿的物品,如普通培养基、0.9% 氯化钠、衣服、纱布、玻璃器材等都可用本法灭菌。

3. 使用方法

(1)在外层锅内加适量的蒸馏水,将需要灭菌的物品放入内层锅,盖好锅盖并扭紧螺旋。

(2)合上电源开关,加热使锅内产生蒸汽,当压力表指示针达到 33.78 kPa 时,打开排气阀,将冷空气排尽,此时蒸汽压力表指针下降,当指针下降至零时,即将排气阀关好。

(3)继续加热,锅内蒸汽增加,压力表指针又上升,当锅内压力增加到所需压力时,才开始计算灭菌的时间,维持此蒸汽压力到所需灭菌时间,然后将灭菌器断电让其自然冷却至室温后再慢慢打开排气阀以排出余气,然后才能开盖取物。

4. 注意事项

(1)待灭菌的物品放置不宜过紧,否则会降低灭菌效果。

(2)必须将冷空气充分排出,否则锅内温度将达不到规定温度,影响灭菌效果。

(3)高压灭菌完毕后,不可强行放气减压,须待灭菌器自然降至与大气压相等后才可开盖。另外,瓶装液体进行高压蒸汽灭菌时,瓶塞应插通气针头,以平衡气压,否则瓶内液体会剧烈沸腾,冲掉



图 1-2-6 高压蒸汽灭菌器

学习记录

瓶塞而外溢甚至导致容器爆裂。

(4)为防冷凝水进入试管或试剂瓶,应在装培养基的试管或试剂瓶的棉塞上包上油纸或牛皮纸。

(5)为了确保灭菌可靠,应定期检查灭菌效果,常用的检测方法是将硫黄粉末(熔点为115)或安息香酸(熔点为120)置于一支试管内,然后进行灭菌实验,如该支试管内物质(硫黄粉末或安息香酸)熔化,则说明高压蒸汽灭菌器内的温度已达要求,灭菌的效果是可靠的。也可将检测灭菌器效果的专用胶纸(其上有温度敏感指示剂)贴于待灭菌的物品外包装上,如胶纸上指示剂变色,亦说明灭菌效果可靠。

(6)现在已有微电脑或自动控制的高压蒸汽灭菌器,下有排气阀,可自动排尽冷气,灭菌时可自动恒压定时,灭菌完毕,自动将已灭菌的物品烘干,使用起来非常方便和安全。

二、电热恒温干燥箱(烤箱)

1. 构造 电热恒温干燥箱俗称烘箱或烤箱,主要由箱体、电热器和温度控制器三部分组成,其外形见图1-2-7。

(1)箱体:箱体由箱壳、箱门、恒温室、进气孔、排气孔和侧室组成。箱壳用不锈钢板制成,箱壁一般分为三层,三层板之间形成内外两个夹层。外夹层中大多填充玻璃纤维或石棉等隔热材料;内夹层作为空气对流层。烤箱的箱门均为双层门,内门为玻璃门,用于在减少热量散失的情况下观察所烘烤物品,外门用于隔热保温。有些干燥箱在外门中间开一双层玻璃窗,更便于在不開箱门的情况下观察烤箱的内部情况。最内层铁(钢)板所围绕形成的室叫做恒温室,室内一般有2~4层网状搁架,用于放置物品。温度控制器的感温部分从左侧壁的上部伸入恒温室,底部夹层中装有电热丝,在箱体的底部或侧面和顶部各有一进、排气孔,在排气孔中央插入一支温度计,用以指示箱内的温度。侧室一般设在箱体的左边,与恒温室隔开,除了电热丝外的所有电器元件,如开关、指示灯、温度控制器、鼓风机等均安装在侧室内,打开侧室门可以很方便地检修电路。



图1-2-7 电热恒温干燥箱

(2)电热丝:电热恒温干燥箱的加温设备通常由4根电热丝并联而成,与普通电炉相似,电热丝均匀地盘绕在耐火材料烧成的绝缘板上,总功率一般在1~8 kW之间。

(3)温度控制器:干燥箱内的温度是由温度控制器控制的。

2. 原理 当恒温箱内的温度超过设定温度时,温度调节器动作使电路中断,自动停止加热;当温度低于设定温度时,电路又恢复,温度即上升,从而达到恒温效果。

3. 应用 玻璃器材、金属器械等(手术器械及针头例外)耐高温而且需要干燥的物品,可用此法灭菌。

4. 使用方法 待灭菌的物品干燥、包装好后,将其置烤箱内,闭门通电,待温度上升至160 后,维持2 h即可。

5. 使用注意事项

(1)待灭菌的玻璃器材必须先充分干燥,否则灭菌时间长,耗电过多,且玻璃器材有炸裂的危险。

(2)灭菌温度不要超过170 ,否则棉花及纸等易燃物品将烧焦甚至出现安全事故。

(3)灭菌后应待干燥箱内温度下降至与外界温度相差不多时,方可打开箱门,否则冷空气突然进入,将可能导致玻璃器材炸裂。另外,有引起易燃品起火的危险,且箱内的热空气快速溢出,易导致操作者皮肤灼伤。

(4)箱内放置物品不宜过多过紧,否则灭菌效果将明显下降。

第八节 超净工作台

1. 原理 超净工作台是国内外应用最为普遍的无菌操作装置,其原理是内设鼓风机,驱动空气通过高效滤器净化后,让净化的空气徐徐通过台面空间,使工作场地构成无菌环境,若使用高密度的微孔滤垫,对病毒的透过也有一定的防止作用(图1-2-8)。

超净工作台可以按气流方向的不同分为三种类型:侧流式,即净化后气流由左或右通过台面流向对侧;直流式,为气流从下向上或相反;外流式,气流迎操作者面部吹来。三者均能达到净化效果,前两类能形成气流屏障保持台面无菌,但在净化气流和外界气体交界处可因气流的流动形成负压,有可能使少许未净化气体混入,有发生污染的可能。外流式气流向工作者迎面流动,外方气流不易混入,缺点是在做有害实验时,对操作者健康不利,使用此类工作台时可采取用有机玻璃把上半部遮蔽,让气流从下方通过的办法,克服这一缺点。



图1-2-8 超净工作台

2. 结构 鼓风机、空气滤板、操作台、照明灯和紫外线灯。

3. 使用方法

(1)在无菌操作前,打开鼓风机和紫外线灯开关,使空气循环并用紫外线照射至少20 min,还要用消毒剂(氯己定溶液或乙醇)擦洗工作台所有物件表面,建立无菌环境。

(2)关闭紫外线灯,进行无菌操作。

(3)操作完毕,清除工作台内的所有器材,消毒剂清洗台面,打开紫外线灯并维持空气循环大约20 min,然后关闭即可。

4. 注意事项

(1)超净工作台应放置在清洁无尘房间,尘土过多易使滤器阻塞,降低净化作用。

(2)使用过程中,一旦气流变弱,如酒精灯火焰不动,说明滤器已经阻塞,应及时更新。为延长滤器使用寿命,可用5~8层纱布盖在第一级滤口外面,以阻挡较大尘埃。

(3)操作过程中,超净台内不要放太多物品,以免阻挡气流,降低滤菌效果。若确需大量器材,应尽可能放置于工作台的后部,这样可减少对气流的干扰。

(4)不可在紫外线灯照射下工作,以免灼伤皮肤和眼睛。

(5)切勿在超净台内同时处理两种培养物,以免交叉污染。

(杨志英)

第九节 其他仪器设备

一、电泳仪

电泳仪根据外加电场的不同,可分常(低)压电泳仪(0~500 V)、中压电泳仪(0~1000 V)和高压电泳仪(0~10 kV)三种。

1. 原理 许多分子都具有可电离的基团,因此在溶液中能够形成正负离子。相同电荷的分子,由于它们在分子量等方面的差异,使之在电场中具有不同的迁移率。此外,电场强度、溶液的pH和溶液中的离子强度也影响迁移率。电泳仪能够提供合适的电场,使粒子在其中泳动,从而将抗原抗体、蛋白质、多肽、DNA、同工酶等进行分离和测定。