

組織培養術

鮑鑑清 編

人民衛生出版社

組 織 培 養 術

鮑 鑑 清 編

人 民 衛 生 出 版 社

一 九 五 七 年 • 北 京

內 容 提 要

此書為修訂本，對內容作了相當的增補，編排上也較完善了。全書分總論各論二篇。總論包括儀器設備和各種中間液及培養基的介紹；以及固定、染色、切片、檢查等技術。各論則分述各種組織的培養方法及觀察所得。本書可供組織學專業人員參考之用。

組 織 培 養 術

開本：850×1168/32

印張：6 3/4

字數：180千字

鮑 鑑 清 編

人 民 衛 生 出 版 社 出 版

(北京書刊出版業營業許可證出字第〇四六號)

• 北京崇文區錢子胡同三十六號 •

人民衛生出版社印刷 · 新華書店發行
長春印刷廠

統一書號：14048·0460

定 價：(9) 0.95 元

1954年4月第1版—第1次印刷

1957年5月第2版—第3次印刷

(長春版) 印數：3,501—5,500

第 二 版 序

我國医学科学在解放后是突飛猛進的，不但研究的機構增多，而設備及工作效力也提高很快。解放前國內医学院罕見的科目如組織培养，現在也因研究的需要而建立起來。1952年國內只有極少数医学院有組織培养室的設備，到1955年差不多所有医学研究機構都有这种設備，足証学者对它的重視。这本小冊子已不够应付現时的需要，故乘此再版的时候，增加一些內容，但仍是很簡陋的。因为我的能力有限，其中不免有誤謬之处，希望國內学者予以指正。本書脫稿后經王鳳振教授的細心校讀，特此誌謝。書中許多插圖，承陈佛痴及刘樹梓兩位技士耐心繪画，也在此表示謝意。

鮑 鑑 清

1956年

目 錄

第二版序

緒言	1
第一篇 組織培養總論	3
第一章 設備	3
第一節 實驗室	3
第二節 器械	5
第三節 器械的清洗、消毒及塗蜡	10
第二章 中間液的配制	11
第一節 洗滌液及培養液	11
第一 生理鹽水	11
第二 林格氏液	11
第三 羅克氏液	12
第四 克拉克氏液	12
第五 范耳能氏液	13
第六 利稅剛氏 753 液	13
第七 霍德弗萊脫氏液	13
第八 羅克-劉伊氏液	13
第九 台羅氏液	14
第十 台羅氏-弗來希氏液	16
第十一 德劉氏液	16
第十二 西姆斯氏液	17
第十三 艾萊氏液	18
第十四 基氏液	18
第十五 里納第尼氏液	19
第十六 費歇爾及歌脫孝斯基氏液	19
第十七 保納爾氏液	20
第十八 磷酸緩沖液梭倫遜	20
第二節 血漿及組織浸液	21
第一 蛙血漿	21

第二	蛙脾汁	23
第三	蝌蚪汁	23
第四	蛙的眼房水	23
第五	鼈血漿	23
第六	鼈脾汁	24
第七	貓血漿	24
第八	犬血漿	24
第九	兔血漿	25
第十	家鼠及天竺鼠血漿	25
第十一	人血漿	25
第十二	雞血漿	26
✓ 一、	翼下靜脈取血	26
、二、	頸靜脈取血	27
、三、	頸動脈取血	27
四、	心臟取血	28
✓ 五、	翼根靜脈取血	29
第十三	干燥血漿及其他代用品	29
、第十四	鷄胎汁	30
第十五	家鼠及小白鼠胎汁	32
第十六	骨髓汁	32
第十七	白血球浸出液	32
第十八	器官浸出液	32
、第十九	血清	33
第二十	羊水	33
第二十一	蛋白胨	33
第二十二	動物麻醉時的注意	34
第二十三	肝素或肝磷脂	34
△ 第三章	培養	34
、第一節	培養時之注意	34
、第二節	培養基	37
✓ 第三節	培養的方法	38
、第一	蓋片懸滴培養法	38
○ 一、	單蓋片法	39
○ 二、	雙蓋片法	39

三、改良的懸滴標本	40
四、簡單的懸滴標本法	40
五、位相差顯微鏡檢查法	42
六、培養	42
(一)液體培養 (二)半流動培養及固形培養 (三)單層培養及 雙層培養	
七、培養的交換及組織的移植	43
第二 鈹玻璃培養法	44
第三 玻璃瓶培養法	44
第四 轉動玻璃管培養法	47
第五 林德伯氏瓶培養法	52
第六 整個器官培養法	54
第七 螢光檢查法	59
第八 併列培養法	60
第四節 培養重量檢查法	63
第五節 培養的測量	64
△第四章 培養檢查法	66
✓第一節 生活觀察	66
✓第二節 活體染色	66
第三節 培養的固定及染色	68
第一 完全標本	68
一、固定及固定液	68
(一)甲醛 (二)泰克氏液 (三)海里氏液 (四)苗勒氏液 (五)奧脫氏液 (六)博安氏液 (七)卡儒氏液 (八)商卑氏液	
二、染色劑	71
(一)漢森氏蘇木精 (二)梅羅氏酸性蘇木精 (三)合萊菲耳特 氏蘇木精 (四)邦登海恩氏鐵蘇木精 (五)黑貴士氏鐵蘇木精 (六)魏格爾脫氏鐵蘇木精 (七)海耳特氏鉍酸蘇木精 (八)哈 利氏蘇木精 (九)莫雷氏改良馬松氏法 (十)戈莫里氏染色法 (十一)安納耳遜氏染色法 (十二)傑姆沙氏染色法 (十三) A. E. M 染色 (十四)麥西莫夫氏法 (十五)費耳氏線粒體染 色法 (十六)彈性纖維染色 (十七)萬季孫氏染色 (十八)脂 肪染色 (十九)動物澱粉染色 (二十)神經組織培養的染色 (二十一)包爾氏鉍浸染法 (二十二)法爾根氏反應 (二十三) 轉動玻璃管培養染色法 (二十四)腫瘤培養的染色	

第二 切片标本	84
一、石蠟包埋	85
二、綿膠包埋	85
三、明膠包埋	85
第三 电子顯微鏡檢查法	86
一、薄軟片生長法	86
二、电子顯微鏡标本的固定剂	87
三、高度超速切片机	87
第二篇 組織培養各論	89
第一章 上皮組織	89
第一節 蛙的皮膚	89
第二節 常溫动物的上皮組織	94
一、皮膚	96
二、肝臟	96
三、甲狀腺	97
四、虹膜上皮	99
五、視網膜上皮	99
六、胸腺	101
七、肺上皮	101
八、腎組織	101
九、顫毛运动	102
第三節 細胞核的轉动	102
第四節 培养中上皮組織的特性	103
第二章 結締組織	104
第一節 間充質	107
第二節 網狀細胞	111
一、鼠胎的脾	111
二、幼鼠的脾	113
三、新生鼠的脾	113
第三節 骨髓細胞	114
第四節 吞噬現象及巨細胞的形成	117
第五節 生活細胞的分裂及其含有物的出現	119
第六節 細胞的死亡現象	122

第三章	軟骨及骨	124
第一節	軟骨細胞	124
第二節	軟骨及骨	125
第三節	骨的再生	127
第一	材料及操作	127
第二	顯微鏡的觀察	129
第四章	肌組織	131
第一節	平滑肌	131
第二節	心肌細胞	134
第三節	橫紋肌纖維	137
第四節	成長動物的平滑肌	138
第五節	肌纖維的收縮	139
第五章	神經組織	144
第一節	腦及脊髓	150
第二節	交感神經	151
第三節	神經膠質	152
第四節	神經纖維的變性及再生	154
第六章	在組織培養上的病理學的問題	156
第七章	腫瘤組織的培養	169
第一節	腫瘤的生長型	172
第二節	在各種影響下的腫瘤組織的發生	176
第一	同種血漿及異種血漿的作用	176
第二	正常組織及新生物組織濾液及浸液的作用	178
第三	化學的及物理學的影響	181
第三節	玻璃器中培養腫瘍細胞的物質代謝	184
第四節	用腫瘍培养基還種於動物體	184
第五節	腫瘤細胞的增生方法	188
第六節	腫瘤組織的培養	190
參考書		194
索引		196

緒 言

生物学家及医学家为了观察机体的微細構造，創立了組織学技術，但所得結果，有时可作不同的解釋。於是創立了活体染色及离体的活体染色，虽然比較進步，也只能观察其生活过程中的一个極小階段。若利用組織培养的方法，可以观察一个很長的时期。它虽是研究組織实验的唯一方法，但是我們不要忘記它是在机体外除去神經系統及整个机体組織的环境下進行的，所以观察的結果必須和各种条件下用各种方法獲得的材料相对照。只有总合所有材料方能正确地判断某种組織的特性。施維脫罗夫(Светлов, П. С.)認為有些学者以組織培养是有缺点的方法为不正确，也就是因为他们只用組織培养所得的成果來确定組織及細胞的性质的緣故。

組織培养或称为体外移植(Explantation)，这个名詞是由罗克士(Roux, W.)氏命名的。

組織培养可分为全部培养及部分培养：

全部培养是培养渺小的生物。部分培养是用整个器官、器官的一部、組織或細胞等，离开机体，在非生活的中間液內長时或短时刻保持它們的生活状态。

移植雞胚最先由罗克士氏(1884)行之，施克孚尔丹夫(Скворцов, И. П.)於1885年進行組織培养，比郝里遜(Harrison, R. G. 1907)用蝌蚪的髓管來培养早20年。1912年輝普尔(Whipple, A.)氏及華尔資(Worther)氏培养雞胚，1913年勃拉舍(A. Braohet)培养兔的胚泡，以及刘伊(Lewis, W. H.; Lewis, M. R.)氏及哈德曼(Hartmann)氏用猴的受精卵作为全部培养。部分的培养可称为組織培养，它的組織不是全能增生，在培养过程中也見其分解、退化及变性等等現象。而細胞的生長由有絲分裂及無絲分裂以實現之。

移植(Transplantation)与組織培养不同，因为移植的組織与别

的机体有联系，而組織培养乃採取組織放入非生活中間液；若採取的組織仍种植於該机体本身，称之为同体移植。如用甲机体的組織种植於同种乙机体的身上，称之为同种移植。如以动物組織移植於人体，称之为異种移植。

移植分为种入或称埋藏 (Implantation) 与介种 (Intenplantation)，种入的組織長久保存而且能利用其机能，是为种入。若种植的組織片只能起一种媒介作用，然后由机体的組織以代之称为介种，或称为机能性补充物。

本書所述着重於組織培养。書中常用移植二字系指組織培养后經過一定时期交換培养基而言，与上述的移植不同。

第一篇 組織培养总論

第一章 設 備

第一節 实 驗 室

巴甫洛夫(Павлов, И. П.)主張生理學實驗室必須具有外科手術室的清潔,故生理實驗室必須有一套相連的房間,各間有一定用途,同時也可防止灰塵飛到最後的一間去。第一間為手術前的準備如動物的洗刷,剃毛,麻醉及手術後的處理。第二間為手術者的洗刷及更衣。第三間為手術室,要有充足的光線及適當的溫度。

卡雷耳(Carrel, A.)氏根據巴甫洛夫的經驗,建立他的實驗室,第一間為動物麻醉及去毛,第二間為手術準備室,第三間為手術者的準備室,末一間為手術室,動物手術後再送回第一間加以處理,手術室即作為培養室。

所以我們建立組織培養室時,有上述的一系列房間,是很理想的。如果沒有,有三間房即足。這三間房的外面一大間隔成三小間,中央為通路,左側一間放置孵卵器及溫箱,靠窗設顯微鏡檢查桌。在室的一角作一小暗室,放垂直投射器,以測量培養組織之發育。右側一間放冰箱及其他藥品器材;中央的一大間作為準備室;最內一大間也分隔為二小間,作為培養室及手術室(圖1)。

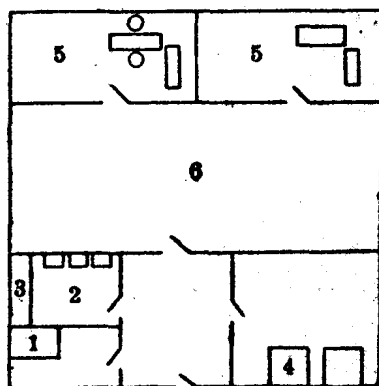


圖1 實驗室

1. 暗室放垂直投射器 2. 放孵卵器及溫箱 3. 顯微鏡檢查桌 4. 冰箱 5. 手術室及培養室 6. 準備室

室內的地面用水泥地或人工石，牆用白磁磚，牆根及牆角要圓，以便清洗消毒。室內光線要充足，保持一定溫度。室門以自动开关为最适当。室內消毒用紫外線在工作前照射半小时，不能在工作中，因它有害於組織的生長。

培养室的陈設 室中央放操作桌一張，它的旁边放一小桌。操作桌上复以白色或黑色消毒桌布。桌面上的器材最好有固定位置(圖2)。如將桌面分为左右二側及中央三部；則桌的右側內方

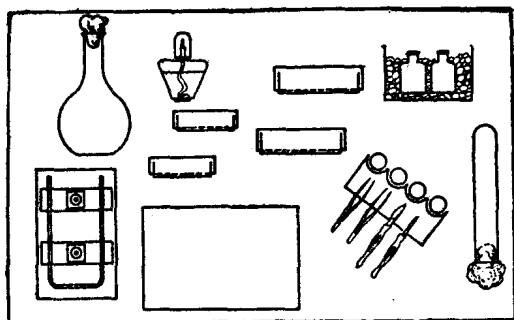


圖2 培养室的陈設

放置試管架，架上斜放四个試管，每个試管內插一支帶有橡皮帽的滴管。它們的用途必須确定，第一支用於林格氏液或台罗氏液，第二支用於取血漿，第三支用取胎汁，第四支作为預备。或者第一支用取血漿，第二支用取胎汁，第三支用取林格氏液或台罗氏液，第四支作准备。一經确定，不可变动。架的里面，放白內障刀，大小鑷子及帶金屬柄的針。架的右側放一个大玻管，內放消毒的吸管及滴管，管口有棉花栓塞；桌的左側內方放長磁盤或木盤，以盛載片标本。盤的前方放煤气灯或酒精灯；桌的中央部前方放有盖的大玻皿二个，一个是空的，一个放消毒的有凹載片。大玻皿左方放有盖的小玻皿两个，其中一个內裝消毒的盖片或云母片。大玻皿右方放血漿瓶及胎汁瓶，最好放在一个有水的玻皿內。灯的右方放台罗氏液及林格氏液等瓶。桌的中央部分，即術者的面前放一塊玻璃板，为操作的地方；小桌上放熔化的石蜡瓶及凡士林一瓶。

毛筆一支。

第二節 器 械

一、電力離心機 每分鐘至少 3000 轉。若於沉淀管外面有一個放碎冰的套管更好。离心机須有固定的機座。沉淀管下端不要太近發動機，血漿因受發動機摩擦產生熱氣的影響而易凝固。

二、小天秤及分析天秤 小天秤放在离心机附近，以便稱沉淀管的內容，使之相等。而分析天秤要有固定的座。

三、溫箱 用電調節，最好備 37.5°C ； 32°C ；及 28°C 三種。此外尚要備有轉動裝置的溫箱及震盪裝置的溫箱（圖 33）。

四、孵卵器 用電調節，保持 $38-39^{\circ}\text{C}$ 。

五、冰箱 用電調節，用以保存血漿、胎汁及其他洗滌液等等。

六、手術台 固定動物，採取血漿時用（圖 9）。

七、乾燥消毒器 用電調節，供金屬器材及玻璃器材消毒之用。普通用 150°C ，40 分鐘即足。

八、熱壓消毒器 用以消毒手術衣、布類、棉紗、棉花、蒸餾水、生理鹽水等。 120°C ，約 $1\frac{1}{2}$ 小時。

九、濾過消毒器 種類很多，普通多用倍克費爾（Berkefeld）式及才資（Seitz）式等。

1. 倍克費爾式濾過器：燒瓶(1)及濾過器(2)先行消毒，橡皮塞用熱壓消毒器消毒。(1)為燒瓶，(3)為連接唧筒或電真空泵。燒瓶若真空，液體自易濾過（圖 3）。

2. 才資式濾過器（圖 4）：(1)為金屬筒，可裝液體，以螺旋固定於燒瓶(2)，筒底放一片厚約二分的除菌石棉制的濾過板。(5)為燒瓶的側管，可以排出氣體。(3)為連接唧筒的管口。液體從(4)注入圓筒，用螺旋閉緊，由(3)壓入氧氣或氮，促使液體濾過。若不用氧或氮，也可由側管(5)抽出空氣，使成真空，則液體自易濾過。

十、玻璃器材

1. 大玻璃皿：直徑 23 厘米，高 8 厘米，帶蓋。

2. 漏斗：各種大小不同的玻璃漏斗。

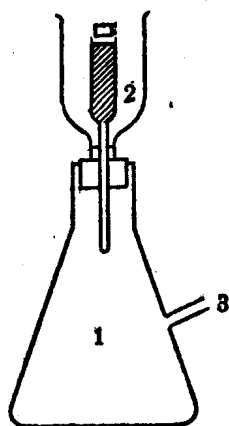


圖3 倍克費爾式濾過器

1. 燒瓶 2. 濾過器 3. 接連水唧筒

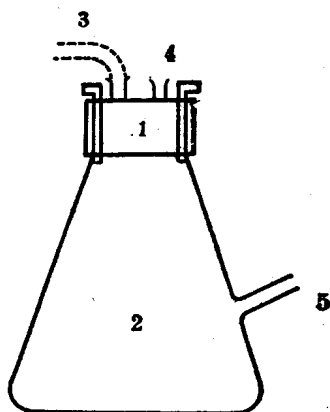


圖4 才資式濾過器

1. 金屬筒 2. 燒瓶 3. 氣唧筒的管口
4. 液体注入口 5. 燒瓶的側管

3. 小玻璃皿：直徑7厘米，高1.5厘米，有蓋。
4. 玻璃瓶：平底，內容200毫升及1000毫升。
5. 小燒瓶或青霉素瓶：內容5, 10及20毫升，放血漿、血清、胎汁及其他臟器抽出液用。

6. 厚壁沉淀管：內容20—50毫升（血液）及10毫升（抽出液）。

7. 刻度厚壁沉淀管：同上。

8. 厚壁試管：長10厘米，口徑7毫米。

9. 試管：長10厘米，口徑13—14毫米，插滴管用。

10. 量筒：內容分5, 10, 25, 50, 100, 500毫升。

11. 有凹載片：凹分橢圓形及圓形二種。橢圓形用以洗滌組織，圓形的用於培養。玻片厚5—6毫米，長寬為75及25毫米，凹徑20毫米，凹深3—4毫米，凹底平，凹為圓筒狀。因培養時可獲得相當的空氣。

12. 蓋玻片：寬長各為22毫米，或各為24毫米，厚0.2—0.22毫米。玻璃的鹼性，有時足以妨害組織的發育。故多用云母蓋片。消毒時每一玻皿放10—20片，以免用時污染其他未用的。

13. 盖玻片：寬長为 12 及 50 毫米，專供轉动玻管培养之用。
14. 云母盖片：寬長如盖玻片(12)，有时用寬長 24 及 40 毫米。它的优点不似盖玻片为鹼性，且不易折断。它的缺点，鏡檢时不及玻片的清楚。

15. 吸管：長 20 厘米(圖 5)。

16. 滴管：長 20 厘米，用於滴加血漿及胎汁，管的尖端务使其粗細一致，否則每滴的

量大有差别。他端配以緊密的橡皮帽。

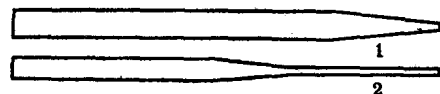


圖 5 吸管及滴管

1. 吸管 2. 滴管

17. 刻度吸管及刻度滴管：內容 1 毫升，分为 100 格。

18. 注射器：备內容 1、2、5、10 及 20 毫升各种，針头备粗細二种。

19. 毛細吸管：長 20 厘米，尖端拉得很細，为吸取培养基上液体之用。

20. 扁瓶或称卡雷耳氏瓶，或称 D 瓶：系用硬質玻璃作成，有种种形式，(圖 29)直徑有 8—2½ 厘米。

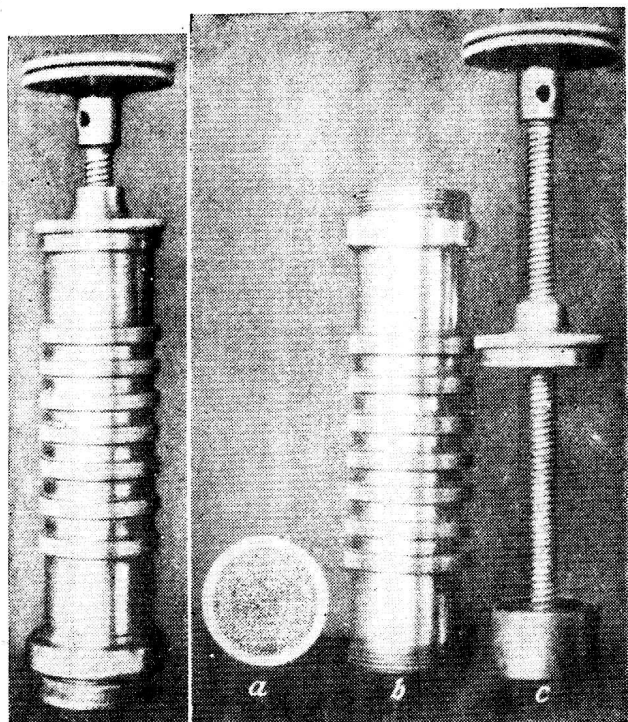
21. 表玻璃：直徑 35 毫米。

22. 大玻筒：厚壁，口徑 35 毫米，長 250 毫米，保存吸管及滴管。

十一、金屬器材

1. 外科剪：尖端一尖一鈍，長 13 厘米，長柄。
2. 弯剪：外科用。
3. 虹膜剪：直柄。
4. 虹膜鑷：弯直各一把。
5. 解剖鑷：尖端內面有齒，長 13 厘米。
6. 白內障刀：尖的，帶金屬柄。
7. 分离針：帶金屬柄。
8. 动脈鉗：12 个。
9. 止血鉗：12 把。

10. 雞胎压榨器：費歇尔氏式，可以折开(圖6)。



甲

乙

圖6 雞胎压榨器

甲、未拆开 乙、拆开

11. 白金筴：一用於种植，長8厘米，一用於移植(圖7)。

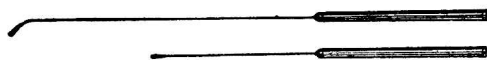


圖7 白金筴

12. 試管架：銅制或鋁制，費歇尔氏式(圖8)。

十二、其他器材

1. 顯微鏡保溫箱：可以自制，用电灯作为热源。