

面向21世纪高等医药院校精品课程教材

(供临床、护理、预防、麻醉、口腔、药学等专业用)

ZUZHIXUE YU PEITAI XUE SHIYAN

组织学与胚胎学实验

主 编 李继承

副主编 方马荣 陈 河 何建如

主 审 顾文祥 倪秀生

浙江大学出版社

面向 21 世纪高等医药院校精品课程教材
(供临床、护理、预防、麻醉、口腔、药学等专业用)

组织学与胚胎学实验

主 编 李继承

副主编 方马荣 陈 河 何建如

主 审 顾文祥 倪秀生

浙江大学出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

组织学与胚胎学实验 / 李继承主编. —杭州: 浙江大学出版社, 2003. 8

面向 21 世纪高等医药院校精品课程教材. 供临床、护理、预防、麻醉、口腔、药学等专业用

ISBN 7-308-03357-0

I. 组... II. 李... 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 (2003) 第 050033 号

责任编辑 阮海潮

出版发行 浙江大学出版社

(杭州浙大路 38 号 邮政编码 310027)

(电话: 0571-88273163 88273761(传真))

(网址: <http://www.zjupress.com>)

(E-mail: zupress@mail.hz.zj.cn)

排版 浙江大学出版社电脑排版中心

印刷 浙江大学印刷厂

开本 787mm×1092mm 1/16

印张 8.25

字数 201 千

版印次 2003 年 8 月第 1 版 2003 年 8 月第 1 次印刷

印数 0001—5000

书号 ISBN 7-308-03357-0/R·121

定价 13.80 元

前 言

《组织学与胚胎学实验》按照卫生部高等医药院校教材编审委员会《组织学与胚胎学》教学大纲的要求,根据面向 21 世纪高等医药院校精品课程系列教材《组织学与胚胎学》编写。全书分组织学实验和胚胎学实验两篇。在第一篇中,对要求观察的切片提出观察的目的和要求,并分肉眼观察、光学显微镜(简称光镜)低倍观察和高倍观察三个步骤。第二篇旨在使学生在理解理论课内容的基础上,理解人体胚胎发生、发育和附属结构形成、演变的规律,掌握人体胚胎发生过程中时间、空间和结构三者的动态变化及局部与整体变化的知识。胚胎学实验多以模型观察为主,辅以实物标本、图像、幻灯片和录像等,帮助学生加深对理论课内容的理解。在每一个实验指导的最后附有思考题,有助于学生实验后复习。

由于各医学院校对组织学与胚胎学实验的要求不同,以及不同专业学生学习的侧重点不一样,所以对本书实验内容可以进行有所选择地教学。此外,为了保证学生实验报告的规范和统一,在本书的最后附有实验报告。

浙江大学医学院多年来在组织学与胚胎学的教学中成绩显著,许多老师在实验教学中积累了丰富的经验,本教材的编委会就是基于这个良好的基础完成了《组织学与胚胎学实验》的编写。在本书的编写过程中,还得到了浙江大学医学院杨友金、黄秋萍和夏华丽同志的帮助,在此表示感谢。

由于我们的知识和编写能力有限,本教材难免存在缺点和错误,欢迎读者批评和指正。

李继承

2003 年 7 月于浙江大学

《组织学与胚胎学实验》编委会

主 编：李继承

副主编：方马荣 陈 河 何建如

主 审：顾文祥 倪秀生

编 委：(以姓氏笔画为序)

丁伯海(浙江中医学院)

丁国芳(浙江海洋学院医学院)

丁明星(金华职业技术学院医学院) 方马荣(浙江大学医学院)

李继承(浙江大学医学院)

陈 河(杭州师范学院医学院)

吴建红(绍兴文理学院医学院)

何建如(浙江大学医学院)

沈 康(杭州师范学院医学院)

沈忠飞(嘉兴学院医学院)

张跃明(浙江中医学院)

金理正(台州学院医学院)

倪秀生(浙江大学医学院)

雷亚宁(温州医学院)

廖异平(宁波大学医学院)

目 录

组织学与胚胎学实验要求

一、实验注意事项·····	(1)
二、显微镜的结构与使用·····	(1)
三、组织切片的一般制作方法·····	(4)
四、实验方法及基本要求·····	(6)

第一篇 组织学实验

实验一 上皮组织(EPITHELIAL TISSUE) ·····	(11)
实验二 结缔组织(CONNECTIVE TISSUE) ·····	(15)
实验三 血液和血细胞的发生(BLOOD AND DEVELOPMENT OF THE BLOOD CELLS) ·····	(21)
实验四 肌肉组织(MUSCULAR TISSUE) ·····	(24)
实验五 神经组织(NERVE TISSUE) ·····	(27)
实验六 循环系统(CIRCULATORY SYSTEM) ·····	(31)
实验七 免疫系统(IMMUNE SYSTEM) ·····	(35)
实验八 皮肤(SKIN) ·····	(39)
实验九 消化管(DIGESTIVE TRACT) ·····	(41)
实验十 消化腺(DIGESTIVE GLAND) ·····	(47)
实验十一 呼吸系统(PESPIRATORY SYSTEM) ·····	(50)
实验十二 泌尿系统(URINARY SYSTEM) ·····	(53)
实验十三 内分泌系统(ENDOCRINE SYSTEM) ·····	(57)
实验十四 男性生殖系统(MALE REPRODUCTIVE SYSTEM) ·····	(60)
实验十五 女性生殖系统(FEMALE REPRODUCTIVE SYSTEM) ·····	(63)
实验十六 感觉器官(SENSE ORGANS) ·····	(67)

第二篇 胚胎学实验

实验一 胚胎总论(GENERAL EMBRYOLOGY)	(73)
实验二 颜面、腭和颈的发生(DEVELOPMENT OF FACE, PALATE AND NECK)	(77)
实验三 消化和呼吸系统的发生(DEVELOPMENT OF DIGESTIVE SYSTEM AND RESPIRATORY SYSTEM)	(78)
实验四 泌尿和生殖系统的发生(DEVELOPMENT OF THE UROGENITAL SYSTEM)	(80)
实验五 心血管系统的发生(DEVELOPMENT OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM)	(82)
实验报告	(85)

组织学与胚胎学实验要求

一、实验注意事项

(一)实验前——做好准备工作

1. 上实验课前,必须先复习相关理论和预习实验内容,以便正确利用实验时间,提高实验效率。
2. 实验前应带实验指导、实验报告、铅笔(普通 HB 铅笔及红、蓝彩色笔各一支,禁止使用水彩笔)、橡皮等进入实验室,所用铅笔应预先削好。
3. 实验前先检查所用之显微镜和组织切片是否有破损和缺失。

(二)实验时——认真做好实验

1. 不迟到,不早退,实验时讲文明,爱护公共财物。
2. 实验时,按实验指导进行实验,按时完成作业。如实验已完,仍应留在实验室内复习组织学切片,不得随便离开实验室。
3. 实验时不私自更换显微镜,不拆卸镜头,不损坏切片等。
4. 示教标本不得随意移动。
5. 显微镜镜头如不清洁,可用擦镜纸擦拭,但要注意节约。禁止用手指或手帕等擦显微镜镜头。

(三)实验后——做好清洁工作

1. 实验结束,将实验报告交给老师。
2. 实验后应把显微镜和组织学切片放回原处,并把实验室整理干净。

二、显微镜的结构与使用

显微镜是学习本课程最重要的工具之一,属贵重仪器,因此我们必须在了解其构造的基础上妥善使用和保护。

(一)显微镜的一般构造

光学显微镜的构造如图 1 所示。

1. 镜座:位于最下部,起支持作用。在镜座左侧下方有一电源开关和电光源亮度调节器。电光源亮度调节器用来调节光源强弱,可选择自己最适亮度。

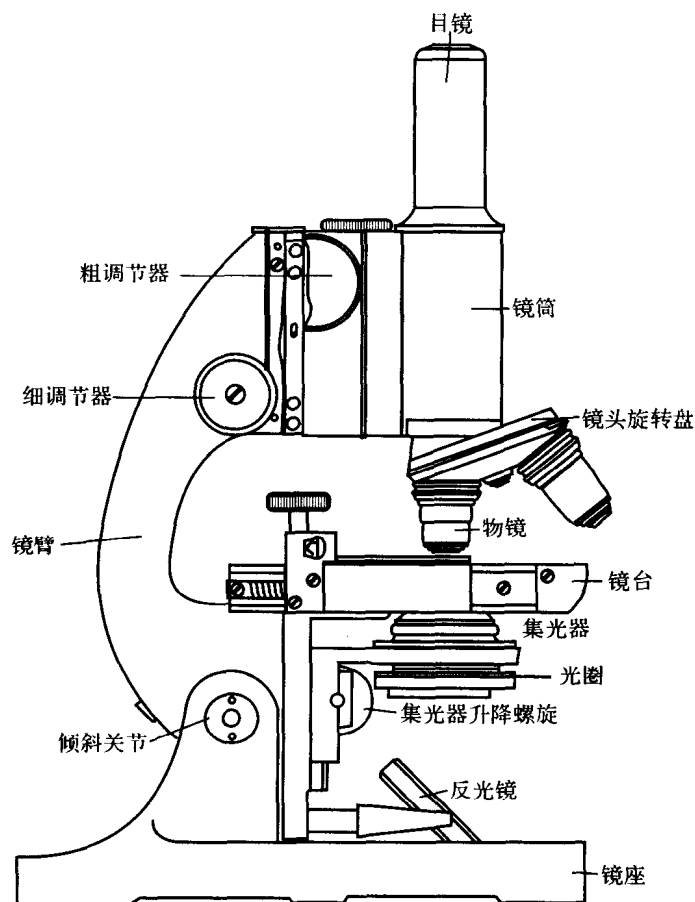


图1 光学显微镜构造示意图

2. 镜臂:位于中部,起支持和握取作用。

3. 镜筒:一般分为内、外两层。

4. 目镜:为双筒,它嵌于镜筒之顶端,根据需要,可自行调节双筒目镜的间距。目镜上刻有 $5\times$ 或 $10\times$ 等字样,表示其放大倍数。

5. 旋转盘:接于镜筒下方,上嵌物镜,可以旋转,用来更换物镜。

6. 物镜:嵌于旋转盘下方,分低倍、高倍和油镜三种,其上均刻有物镜放大倍数,如 $4\times$ 、 $10\times$ 、 $40\times$ 、 $100\times$ 。

(1)低倍镜:有两种,一种放大约 4 倍,镜头最短,有红线标记;另一种放大约 10 倍,镜头较长,镜面较小,有浆红色线标记。

(2)高倍镜:放大约 40 倍,镜头较长,镜面较小,有绿线标记。

(3)油镜:放大约 100 倍,镜头最长,镜面最小,有淡蓝色线标记,使用时在镜头与玻片之间要加香柏油,以提高显微镜的分辨率。

7. 粗调节器:位于镜臂下方,转轮较大。

8. 细调节器:位于粗调节器中间,转轮较小,在外还有一升降刻度。

9. 镜台:为放置玻片的平台,中央有一圆孔,光线可通过此孔,镜台上装有玻片推进器。

10. 副镜面:由集光器和光圈两部分组成。

(1)集光器:由多块透镜组成,用于集聚光线。

(2)光圈:位于集光器下方,可任意缩小和扩大。

11. 光源:位于镜座中间的圆柱形结构,内装有小灯泡作为本显微镜光源,灯泡上面可放置各种滤色镜片。

(二)显微镜的使用规则

1. 携取:右手握持镜臂,左手托住镜座。

2. 放置:镜臂向前、镜台向后,置座位偏左侧。

3. 对光:本显微镜光源不来源于外界自然光,而它本身有一光源,因此插上电源插头后,打开开关,转低倍镜于镜筒下方,调节光源强度,用双眼在目镜上观察,使视野内明亮度以自己感觉舒适为宜。两目镜之间的距离可自行调节,如光源太强,则观察时刺眼;如光源太弱,则观察时有不舒服之感。

4. 装上组织切片:对光后,用粗调节器升高镜筒,将切片标本平置镜台上。盖玻片必须向上,否则用高倍镜观察时不能看清,并易压碎切片和损坏镜头。然后将组织切片移至圆孔中央。

5. 使用低倍镜,依下列步骤进行:

(1)先将粗调节器往外转,并用双眼在镜侧看好,使镜筒慢慢下降至距玻片约 3mm 为止。勿使镜头与玻片直接接触。

(2)双眼注视目镜,并将粗调节器向内转,使镜筒慢慢上升,直至见到物像为止。

(3)转动细调节器,使物像达到最清晰为止。

(4)如光线太强或太弱,或切片位置不当,均于此时调节校正。

由于低倍镜视野大而清晰,可以看清较多的结构,因此在观察和寻找组织器官时,尽量在低倍镜下用功夫。

如欲观察细胞的结构,可用高倍镜,但在高倍镜视野中能看见的范围小,故在使用之前,必须在低倍镜下把要观察的部分先移到视野中央,再转用高倍镜。否则,在高倍镜下很难找到需要观察的结构。

6. 使用高倍镜:在低倍镜下将需观察的结构移至视野中央后,把高倍镜转至镜筒下方,再用细调节器调节焦距,即可得到清晰的物像。

7. 使用油镜:在使用油镜之前需做好两个准备:其一,将油镜镜头和玻片用 1:1 乙醚纯酒精或二甲苯拭净;其二,先用低倍镜和高倍镜找到需要观察的物体,并移至视野中央。接着按下列步骤操作:

(1)先把镜头升高约 1cm。

(2)油镜头转至镜筒下方。

(3)滴香柏油一滴于切片上欲观察之处,勿产生气泡。

(4)两眼从侧面看镜头,将镜头慢慢下降,直至镜头浸入油滴,但与玻片相隔约 0.5mm 左右。

(5)双眼注视目镜,并用细调节器调节至最清晰为止(注意:使用油镜时,光线需强)。

(6)油镜使用以后,必须先用擦镜纸抹去镜头和玻片上的油迹,然后再用少量 1:1 乙醚

纯酒精拭净。

8. 收藏:使用完毕后,首先关掉电源开关,拔掉电源插头,移去玻片,再将镜头下降,把物镜转到两侧,然后转动粗调节器,使镜筒下降至最低处,最后放回橱内。

(三)显微镜的保护

1. 必须用两手来携取和送还显微镜,即用右手握住镜臂,左手托住镜座。
2. 使用时,勿使尘埃、湿气、水滴、药品等沾及显微镜的任何部位。
3. 目镜和物镜遇到灰尘或污物时,禁止口吹和手抹,以免损伤透镜,而需用擦镜纸或绸布擦净,如果干拭擦不净,那么可用擦镜纸或绸布蘸一滴1:1乙醚纯酒精将污物拭去。
4. 严禁拆卸、调换和玩弄目镜和物镜,取用镜头时,手指切勿触及它。
5. 使用细调节器或推进器勿用力过猛,以免受损。
6. 离开座位时,需将镜身推向桌子中央,以免撞翻。

(四)其他

1. 必须牢记“先低倍,后高倍,盖玻片向上”。
2. 显微镜放大倍数=目镜放大倍数×物镜放大倍数。

三、组织切片的一般制作方法

(一)制片方法的种类

在实验教学中所观察的各种组织切片,所采取的制片方法种类很多,主要有以下几种:

1. 切片标本:此种组织标本制片法是组织学研究中最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、火棉胶包埋切片和冰冻切片,其中以石蜡包埋切片最常用。在制作石蜡和火棉胶包埋切片的过程中,组织都得经过取材、固定、脱水、透明、石蜡或火棉胶包埋、切片、染色和封固等步骤。而冰冻切片只经过取材、固定、冰冻、切片、染色和封固等步骤。

2. 涂片标本:把人体内液态的组织成分(如血液、骨髓)或内脏器官的排出物(如精液、阴道脱落细胞等)直接涂抹在载玻片上,经固定和染色制成组织标本。涂片标本用以观察细胞的形态及其微细结构。

3. 铺片标本:将膜状组织结构如大网膜、肠系膜或皮下疏松结缔组织、神经丛等结构成分伸展后平铺于载玻片上,经固定、染色和封固等步骤制成组织标本。铺片标本主要用于观察各种结构成分的整体形态和微细结构。

4. 磨片标本:把坚硬的骨和牙,不经脱钙而直接磨成薄片,不染色或经过染色后,封固制成标本,如骨磨片、牙磨片等。

5. 压片标本:将小块组织经药物处理、染色后,用盖玻片压平于载玻片上所制成的标本,如运动终板、肌梭等。压片标本用以观察其结构的整体形状。

6. 分离标本:把组织块浸入化学药品分离液内,分解细胞间质,使细胞分离,再染色和封固制成的组织标本,即可观察单个完整的细胞,如肌纤维、神经元等。

7. 血管注射标本:将卡红、普鲁士兰、墨汁等染料加明胶配制成染色液注入血管内,然后取材、固定、包埋、切片和封固所制成的标本,如肝、肾、肺、小肠等血管注射切片标本,以观察这些器官的血管分布特点。

8. 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,例如鸡胚整体标本,以观察胚体的表面立体形态特征。

9. 活体标本:指光镜下直接观察活细胞或组织的形态和运动状况的标本,如精子运动、纤毛运动等。

(二) 制片方法及主要操作步骤

组织标本的各种制片方法在具体操作上虽然有所不同,但其基本操作步骤是类同的,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。现把各种制片方法归纳为切片法和非切片法两大类,并将其主要操作步骤列于图 2 中。

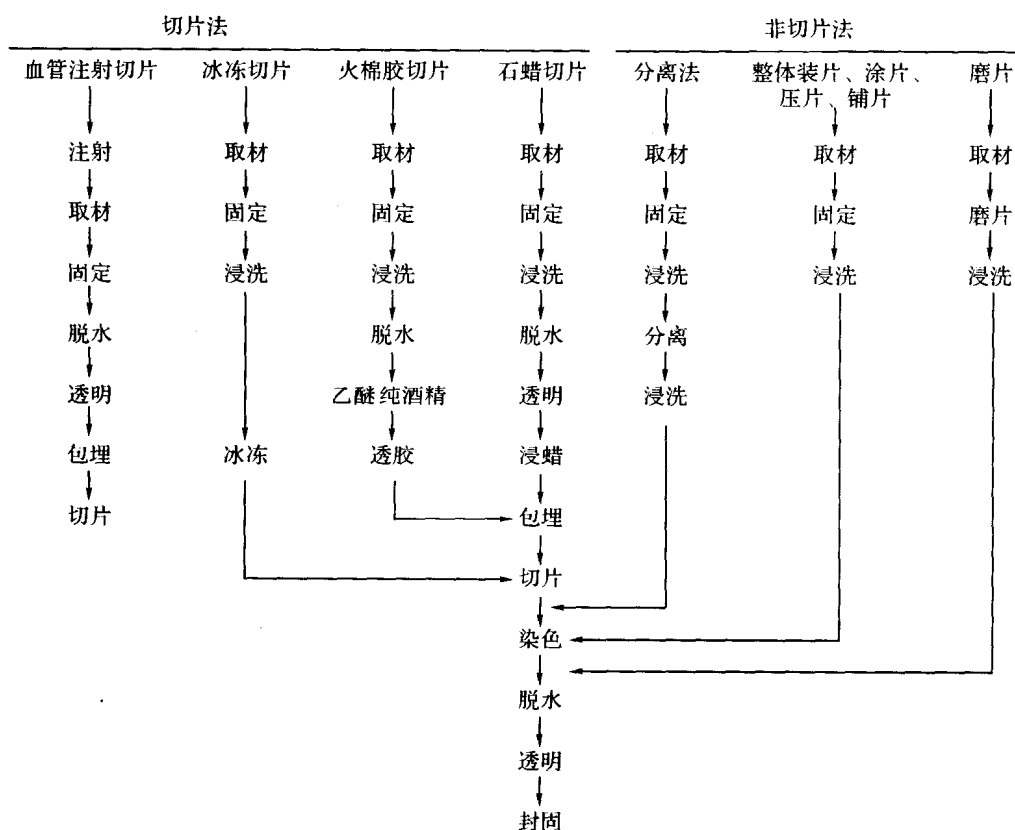


图 2 制片方法及主要操作步骤

(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,经苏木素(hematoxylin)和伊红(eosin)染色(简称 HE 染色),通常称之为普通染色切片或常规染色切

片;除此以外的其他各种染色方法则称为特殊染色。现对该种常规制片染色方法的制作过程详细介绍如下,使同学们对实验中将要观察的组织标本的染色和制作过程有所了解(图2)。

1. 石蜡包埋切片与 HE 染色法

(1)取材:材料愈新鲜愈好,以防组织失活后发生变化。组织块厚度不应超过 0.5cm。

(2)固定:将组织块放入 10%福尔马林、Bouin 液等固定剂中固定 24 小时,使组织细胞的蛋白质变性,以保存其原有的形态。

(3)浸洗:固定后须经流水或酒精洗涤,直至组织内的固定剂洗净为止,一般约需 24 小时。

(4)脱水:经过 50%、70%、80%、90%、95%、100%各级酒精脱水,每级为 2~6 小时,其目的在于除去组织中的水分,代之以酒精。

(5)透明:组织脱水后,浸入二甲苯内直至透明为止,使组织中的酒精被透明剂取代后才能浸蜡包埋,一般为半小时至 2 小时。

(6)浸蜡:放入温热熔融的石蜡内浸透数小时,通常为 2~4 小时即可。

(7)包埋:将温热之石蜡倒入一定形状的容器内,使组织凝固其中,以待切片。

(8)切片:用切片机将含有组织的蜡块切成厚度为 5~8 μ m 的薄片。

(9)贴片与烘干:在清洁的载玻片上匀涂微量蛋白甘油,再滴上数滴蒸馏水,并将蜡片贴于水面上,在烘片台上使蜡片展平后烘干。

(10)脱蜡与入水:切片浸入二甲苯内 10~20 分钟,再依次经过 100%、95%、90%、80%、70%酒精各 5 分钟,然后入蒸馏水 2 分钟。

(11)染色:切片放入苏木精染液 5~10 分钟→自来水洗 2 分钟→0.5%盐酸溶液分色数秒钟(光镜下检查胞核呈浅红色,细胞质及胶原纤维几乎无色)→蒸馏水洗→流水冲洗半小时→蒸馏水冲洗 1 分钟→70%、80%、90%酒精冲洗各 5 分钟→0.5%伊红染液(以 90%酒精为溶剂)3~5 分钟→95%酒精分色(至无红色自组织上脱下为止)。

(12)脱水:已染色的组织切片依次放入 95%酒精 1~2 分钟→100%酒精(I)、(II)各 10 分钟。

(13)透明:切片脱水后放入二甲苯(I)、(II)、(III)内,每道各 10 分钟。

(14)封固:将已透明的组织切片从二甲苯中取出,滴加树胶,盖上盖玻片封存。

染色结果:细胞核呈紫蓝色,细胞质和细胞间质的某些有形成分则呈粉红至红色。

2. 镀银染色法:机体中的某些组织结构成分,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's 染色法:常用于血涂片的制作。

4. 活体染色法:把无毒或毒性很小的染料(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,以此识别巨噬细胞。

四、实验方法及基本要求

1. 观察:本课程的实验标本主要是切片,观察切片时,对每张切片都应按照实验指导,先用低倍镜将切片全部观察一遍,然后选择适当的部位转至高倍镜下仔细观察。

显微镜下看到的形态结构往往和理论上所描写的情况并不完全一样,究其原因,大致有如下几种:

(1)出现情况不同,其形态结构可能产生差异。如腺细胞一般呈立方形,但充满分泌物时,细胞可转变为柱形;分泌物完全排出时,则可变成低立方形,甚至是扁平形。

(2)由于切面关系,在立体结构的不同切面上,其形态不可能全部一样。在理论讲解时,我们总是以全面的、立体的观点加以介绍,但在实际观察切片时,由于切面限制,我们只能看到立体结构的一个切面(图3)。

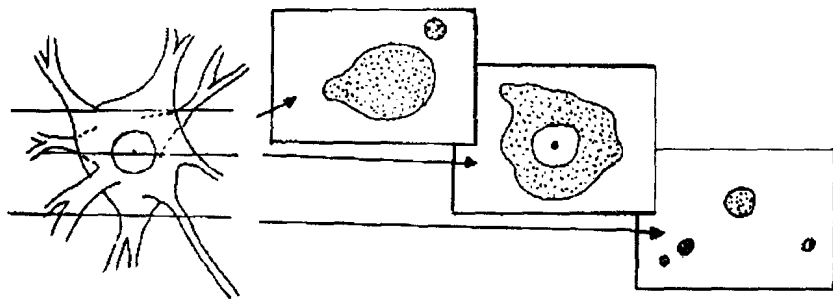


图3 神经元不同切面示意图

(3)由于染色的限制,在理论上所描述的组织结构,不能用HE染色法显示出来,而要通过各种特殊染色才能加以补充显示,如肥大细胞、神经原纤维、小肠内的嗜银细胞等。

(4)由于人工伪像的干扰,活细胞或组织在制样过程中会受到某些因素的影响,例如脂肪细胞的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,观察时应注意加以识别。

2. 绘图:为加强记忆,选择某些重点切片,在仔细观察的基础上进行绘图,绘图格式如图4所示。绘图时要求做到:

(1)科学性:所绘结构和文字说明应当概念清楚,正确无误。

(2)真实性:力求反映镜下所见的真实微细结构,颜色应尽量与其相应。

(3)特征性:图中应突出所观察的细胞、组织或器官的结构特征。

(4)艺术性:图面设计、大小比例、颜色深浅、线条粗细等都应合理适当,要有艺术感。

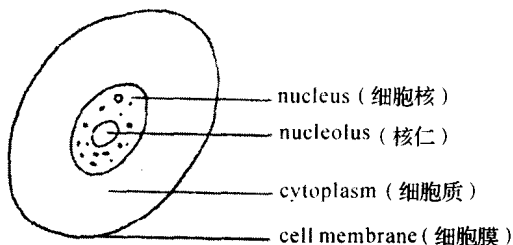


图4 绘图格式示范

(5)认真程度:一幅图的质量和认真程度如何,可以反映同学的学习态度是否端正。

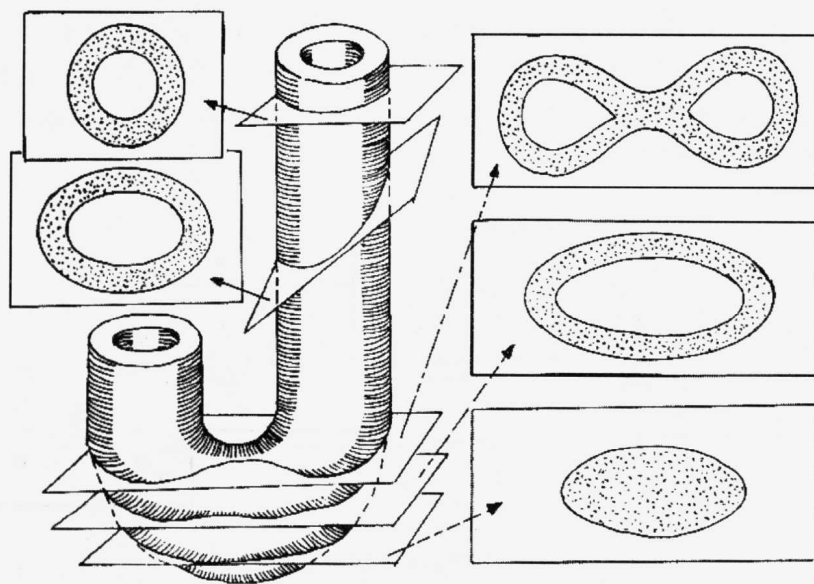
绘图过程中注意用相应的彩色笔,例如HE染色切片,可用蓝色绘细胞核,红色绘细胞质。绘好图后,将各种结构引出标线,用铅笔分别用中英文标明内容,标线要平行整齐,图下面应注明标本名称、染色方法、放大倍数。

3. 示教:按实验指导及示教简图辨认各种结构的切面(图5)。

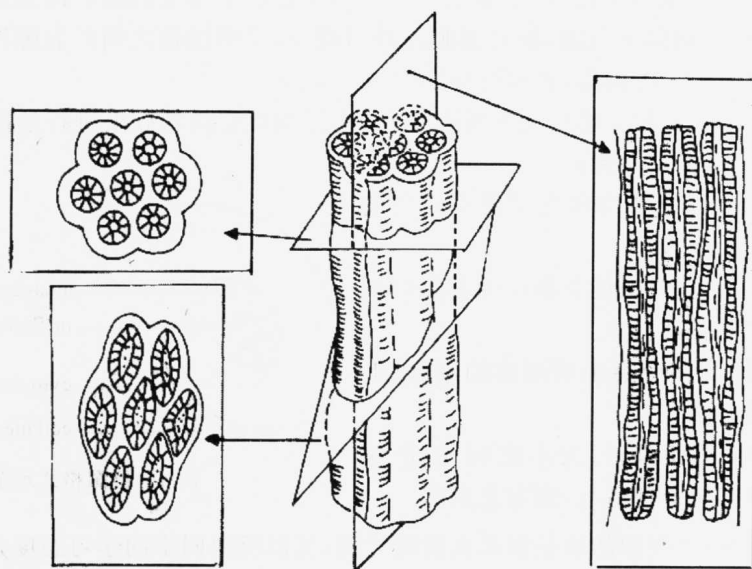
4. 电镜图像观察:认识重点内容的超微结构。

(1)透射电镜图像的观察:着重观察细胞膜、细胞外形、细胞器和细胞核的超微结构。

- (2)扫描电镜图像的观察:着重于细胞、组织或器官表面的形成结构及整体、立体关系。
5. 观看录像:了解一些基本实验操作,进一步深化对理论内容的理解。



A. 管状器官的不同切面



B. 束状器官的不同切面

图5 器官不同形态的切面示意图

第一篇 组织学实验

组织学研究的内容包括细胞、基本组织、器官和系统。细胞是人体结构和功能的基本单位,是组织和器官的结构基础。许多形态相似、功能相关的细胞,与细胞间质结合而形成的细胞群,称为组织。组织有多种类型,每种组织具有某些共同的形态结构特点和相关的功能,执行一定的生理功能。器官是在胚胎发育早期几种不同组织发育分化和相互结合形成的,在机体内执行比组织更高一级的特定生理功能。许多功能相关的器官联合在一起构成系统。每个系统在机体内执行一定的相对独立的功能。

组织学实验主要应用组织切片在光镜下观察,理解组织学理论,学生通过观察组织与细胞的光镜结构,然后绘图,加深记忆,并为病理学的学习奠定基础。在学习中,针对一些难点和少见的组织结构和细胞,本实验还提供了示教内容。组织、细胞的超微结构也是组织学学习的重点之一,实验中可根据不同专业的学习要求,重点选用电子显微镜的图片进行示教。此外,还可辅以挂图、幻灯、投影、录像和多媒体教学,力求取得良好的组织学实验效果。

