

組織学技术

鮑 登 清 主 編

吉 林 人 民 出 版 社

1

組 織 学 技 術

鮑 鑑 清 主 編

吉 林 人 民 出 版 社

1 9 6 2 · 长 春

內 容 簡 介

本书較詳細地介紹了若干医学、生物学及組織胚胎学方面的一些研究技术，可供大专学校生物学系及医学院教师参考之用，对于各高等院校普遍地开展这些研究技术，可以有所裨益。

本书內容有四：1. 近年来常用的各种特殊显微镜如3D聚光器、螢光、相差、偏光等的基本原理、設備裝置及用法。2. 活体观察如显微操作术、石英杆照明法、耳窗及皮管活体观察法等特殊的研究技术。3. 为了研究細胞中的各种与功能有关的結構及其位置，介紹了組織化学、免疫組織学和电子显微镜技术有关的超薄切片术。4. 胚胎学的一部分技术、如模型再造术。各篇內容的来源不一，多附有参考文献，以便进一步查閱。

組 織 学 技 术

鲍鉴清 主編

*

吉林人民出版社出版 (长春市北京大街)

吉林省书刊出版业营业許可証出字第1号

长春新华印刷厂印刷 吉林省新华书店发行

开本：850×1168 1/32 統一书号：15091·110

印张：11 1/2 插頁：4 字数：248千字

印数：1,407册

1962年12月第一版

1962年12月第一版第一次印刷

定价 (10)：一元八角四分

序

科学越发展，越要求复杂特殊的技术来验证科学上的新理论、完成科学研究的新成就、开辟科学上的新途径。事实早已证明，在一定程度上，科学的发展有赖于技术的帮助，技术的提高，也有赖于科学的指导。两者是相辅相成、互相促进、互相为用、关系极为密切的。

本书主编鲍鉴清教授和编辑同志们，鉴于目前国内有关组织胚胎学的研究技术书籍很少，而工作上又很需要，深感有必要编辑一部技术书籍，详细介绍一些特殊研究技术，与同道共同推敲参考。鲍老从事组织胚胎学数十年，至今勤恳治学不倦，对组织胚胎学界更是始终热爱备至。这种编辑著述工作，是要付出相当的劳动代价的，但它却可以创造和丰富学术财富，裨益学术经验交流，互相学习，有利于科学的成长提高，是值得赞助的。

本书共十余万言，分为四个部份，参加编辑的同志都是在鲍老直接教导下成长起来的学生，在鲍老的亲自指导下，利用三五年来的教学研究的业余时间完成了本书的初稿出版。至于其他新的特殊技术，他们计划继续另册写出，使其随着科学的不断发展，而逐步相应的完善起来。

今年适值鲍老七旬大寿，我以昔年医学受教、多年相处受益、终生作弟子的心情，祝贺老师健康长寿和新书出版。并祝编者同志们群策群力、团结合作，在医学上作出更大成绩，为祖国增光。

陳淇園

1962年10月于长春

吉林医科大学

目 次

一、显微操作术	鲍鉴清、謝錦玉 合編.....	1—64
二、石英杆照明法	鲍鉴清 編.....	65—76
三、皮管活体观察法	鄂 征 編.....	77—90
四、兔耳窗法	张中益 編.....	91—101
五、3 D 聚光器	鲍鉴清 編譯.....	102—119
六、螢光显微鏡术	馬 馳、許 屏 合編.....	120—161
七、相差显微鏡术	尹 昕 編.....	162—192
八、偏光显微鏡术	戴树宏 編.....	193—218
九、暗視野显微鏡	許 屏 編.....	219—227
十、超薄切片法	尹 昕、张中益 合編.....	228—244
十一、显微組織化学方法.....	謝錦玉 編.....	245—306
十二、孚尔根氏微量分光 光度計的用法	謝錦玉 編譯.....	307—326
十三、螢光免疫組織术.....	許 屏、鲍鉴清、尹 昕 合編.....	327—358
十四、模型再造术.....	王凤振 編.....	359—362

一、显微操作术

鲍 鉴 清 謝 錦 玉

目 次

第一、显微操作器	5
一、夹在显微镜及镜台上的操作器	5
二、在显微支架安装的辅助工具	10
三、用手术支架的显微操作器	10
(一)螺旋推进显微操作器(10) (二)杠杆显微操作器(14) (三)滑动显微操作器(17) (四)气压及水压显微操作器(21) (五)按伸缩器原理的显微操作器(23) (六)电气显微操作器(26) (七)超显微操作器(26) (八)紫外线显微操作器(26)	
第二、显微工具及其制法	27
一、显微工具	27
(一)小 灯(28) (二)材 料(29) (三)显微用具(29)	
1. 显微针 2. 吸管	
①口吸管 ②显微吸管 ③显微针及显微吸管的保存	
④显微烧灼器 ⑤显微电极 ⑥特别显微工具	
二、湿室	45
三、显微操作的光学条件	51
第三、显微操作法	55
一、被检物的捕获	56
(一)吸除液体以固定标本(57) (二)显微镊子的应用(57)	

(三)显微水道(57)	
二、穿刺及切断	58
(一)穿刺阿米巴的空泡(58) (二)切断草履虫(59)	
三、分离法	59
(一)分离盲螈胚胎的表皮细胞(59) (二)分离单个 的枯草杆菌(60)	
四、测定细胞的酸硷度	61
五、显微操作的摄影	62
参考文献	63

显微操作器未发明以前，生物学家和医学家用极简单的工具在微小生物及胚胎细胞作种种实验，因为工具简陋，未得满意结果，所以生理学家普倾野 (Johannes Evangelista Purkinje) 在 1844 年出版的华格纳 (Rudolph Wagner) 生理辞典中有建制显微手术的工具以进行早期胚胎细胞及微小生物的实验的愿望，可惜未能引起当时学者们的注意，以致显微操作法进展很慢，直到十九世纪后叶才为一部分学者重视，用以研究生物学和医学领域中的种种重要问题。

近数十年来显微操作法在组织学上主要用以分离或穿刺单个的细胞和组织。在微生物学上用以分离单个细菌作单细菌培养，在实验胚胎学上用于细胞及幼胚等实验，故其应用范围甚狭。近年来由于显微操作器的逐步完善，工业方面也用以研究金属和矿石。

因为显微操作器与显微镜是相辅而行的，显微工具在狭窄空间内的运动，是随显微镜的方位而定。了解显微操作器向各方向的运动，必先明了显微镜的方位 (如图 1)。显微镜的 AB 线为垂直轴，在这一方向上的运动称为垂直动，CD 线为矢状轴，和它平行的运动为矢状动，EF 为横轴，与它平行的运动为横动。横动及矢状动通称为水平动。P₁ 是显微镜的前方，P₂ 为右方，P₃ 为后方，P₄ 为左方，GH 为显微镜载物台前缘，HJ 为左缘，GK 为右缘，JK 为后缘。

显微操作术所用工具，如吸管支柱 (Pipettenträger 或 Pipettenhalter)，显微手术工具 (Mikrooperator, Mikrooperationsgeraet, Microdissector)，彼得菲 (T. Peterfi) 通称为显微操作器 (Micromanipulator)。所有操作，他称之为显微手术 (Mikrurgie)。

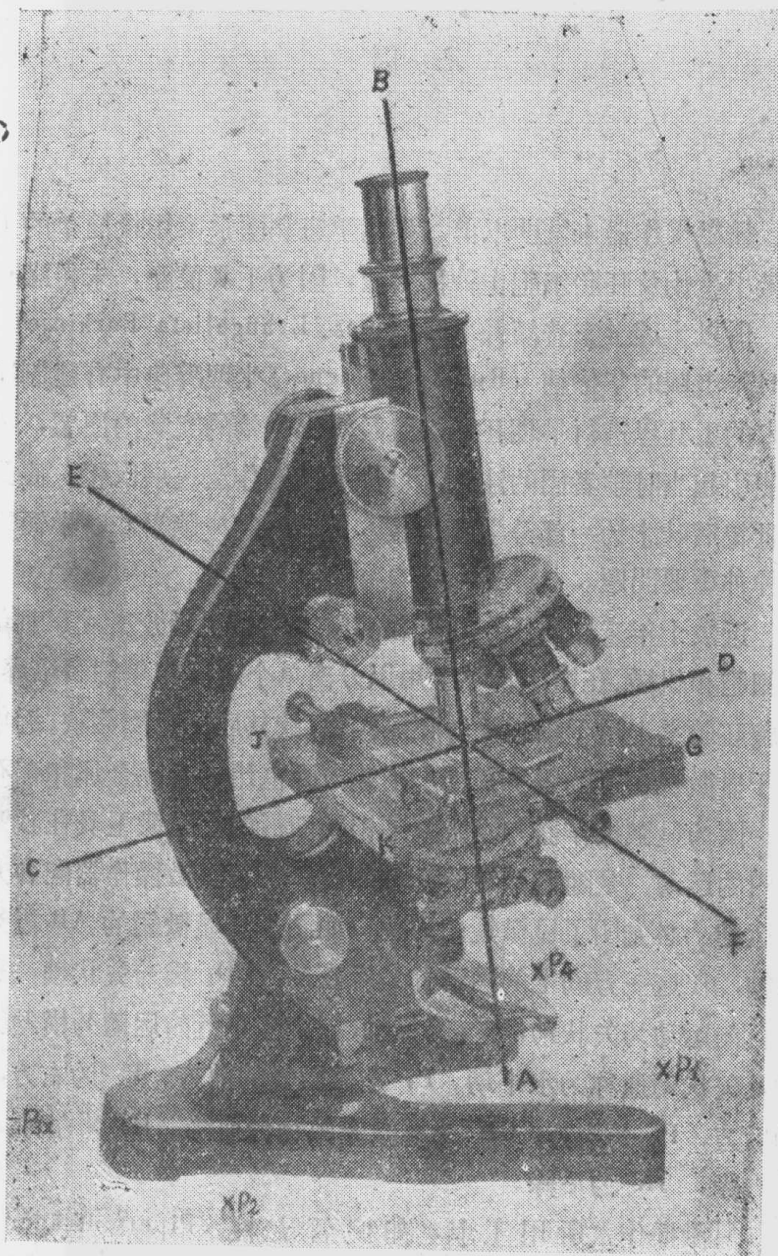


图1 显微镜的方位

AB.垂直轴 FE.横轴 CD.矢状轴 GH.镜台前缘
HJ.镜台左缘 JK.镜台后缘 GK.镜台右缘 XP1.
镜台前方 XP2.右侧 P3X.后方 XP4.左侧

所謂显微手术或显微操作术包括单細胞的分离、显微注射、显微吸出、显微解剖、显微电气烧灼以及其他特殊技术。

显微操作用的工具，普通加“显微”二字，以表示其微細；如显微針、显微环、显微吸管、显微电气烧灼器，所有这些工具，没有一个总名。而封勃卢 (P. de Fonbrune) 选用显微制作工具 (Microforge) 一字，到现在尚没有一个比較更恰当的名称。

第一、显微操作器

显微操作术中最重要工具为显微操作器 (Micromanipulator)，种类很多。从发明以来将近 100 年，其数不下二百余种，茲就其主要的介紹于下：

一、夾在显微鏡及鏡台上的操作器

用夾在鏡台上的解剖針以分解細小生物是由施密忒 (H. D. Schmidt) 开始 (1859)，他是按普傾野的意見和显微操作器的基本结构原理設計的。解剖針的位置与鏡台平行，解剖針可以矢状动和垂直动 (如图 2)。到 1887 年卡勃萊 (L. Chabry) 特別設計了一种操作器 (如图 3) 能向水平动。与此近似的有克沙柏斯基 (S. Czapski) 及格哈尔脫 (W. Gebhardt 1897) 的毛細管轉动器 (Capillar rotator)。1912 年查孝汀 (S. Tschachotin) 利用十字动台設計了一种显微操作器。1914 年巴勃 (M. A. Barber) 为安裝口吸管創制一种手术支柱，其应用范围更为方便。1916 年赫克尔 (F. Hecker) 改用二根吸管支柱，夾于鏡台上，較前益便。

到本世紀二十年代张伯尔士 (R. Chambers) 的操作器 (如图 4) 用螺旋推进，但在高倍鏡，螺旋常有空轉之弊，即螺旋轉动

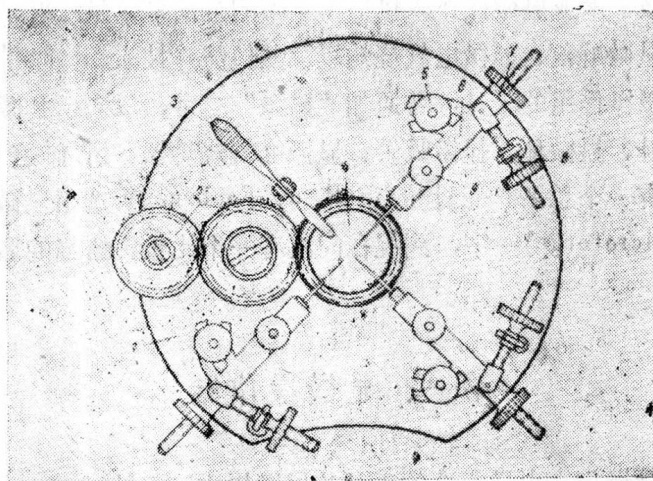


图2 施密忒显微操作器

1. 操作器的基板 2. 玻璃器的齿輪 3. 有弹簧的压被检物玻璃夹 4. 放被检物的玻璃容器 5. 推动垂直动的螺旋 6. 工具夹持杆 7. 推动水平位縱軸移动的螺旋 8. 推动水平位向側方移动的螺旋 9. 固定工具夹持杆的螺旋

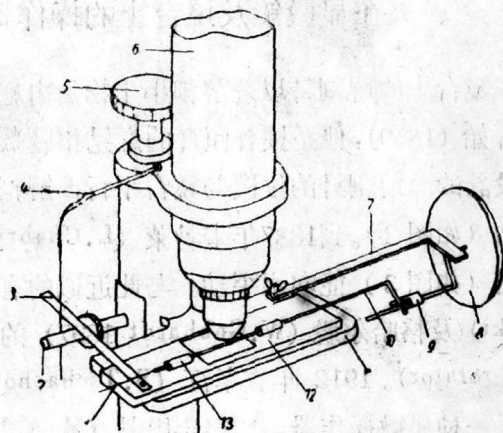


图3 卡勃莱显微操作器

1. 玻璃针 2. 推动 3. 的細螺旋 3. 移动玻璃针的杠杆 4. 杠杆的弹簧 5. 显微镜的細螺旋 6. 显微镜筒 7. 轉輪的曲尺 8. 轉輪 9. 小携帶 10. 放置卵細胞的玻璃管 11. 显微镜載物台 12. 金屬板 13. 橡胶管

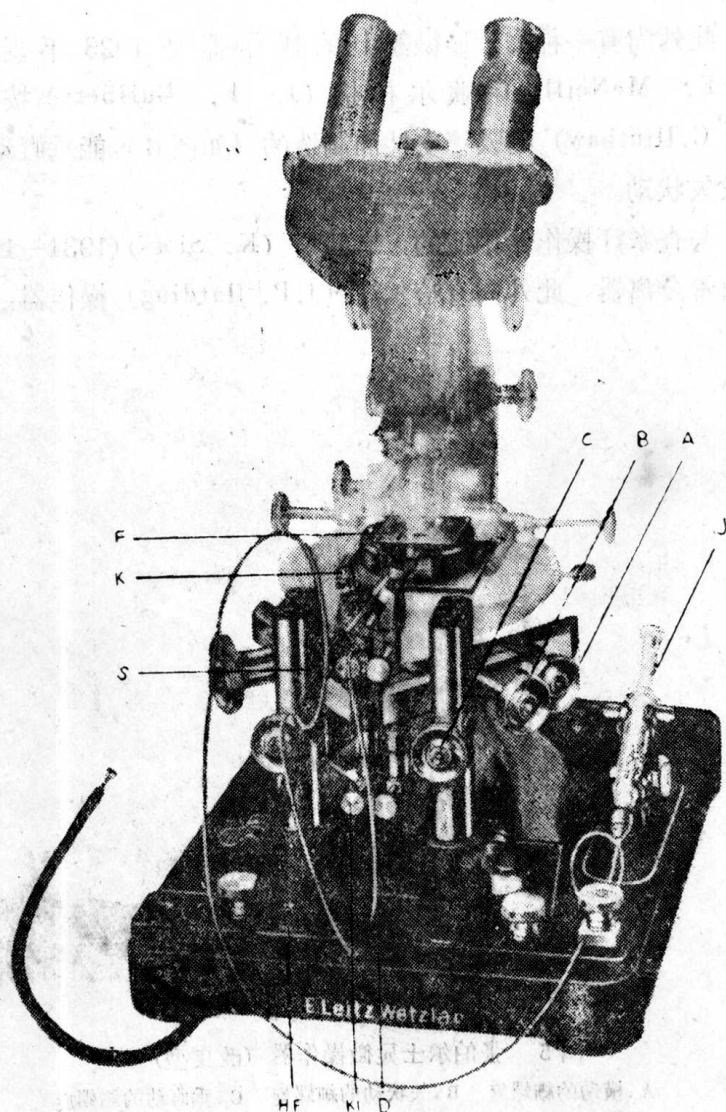


图4 张伯尔士显微操作器

A. 细操作螺旋 B. 细操作螺旋 C. 细操作螺旋 D. 粗操作螺旋
F. 湿室 K. 夹螺旋 S. 夹螺旋 KI. 夹螺旋 Hf. 固定器 J. 显
微吸管的唧筒

而显微工具不动，乃改用螺旋轴，因其作用于弹簧，可以消除空转之弊。

此外尚有一种夹于显微镜上的操作器是 1923 年麦克尼尔 (E. McNeill) 和歌尔柏格 (J. F. Gullberg) 按深肖 (H.C. Hinshaw) 的吸管支柱而制造的 (如图 6)，能垂直动，横动及矢状动。

与查孝汀操作器相似的，有西斯 (K. Siess) (1934—1936) 的吸管分离器。此外尚有哈尔汀 (J.P. Harding) 操作器，兼采

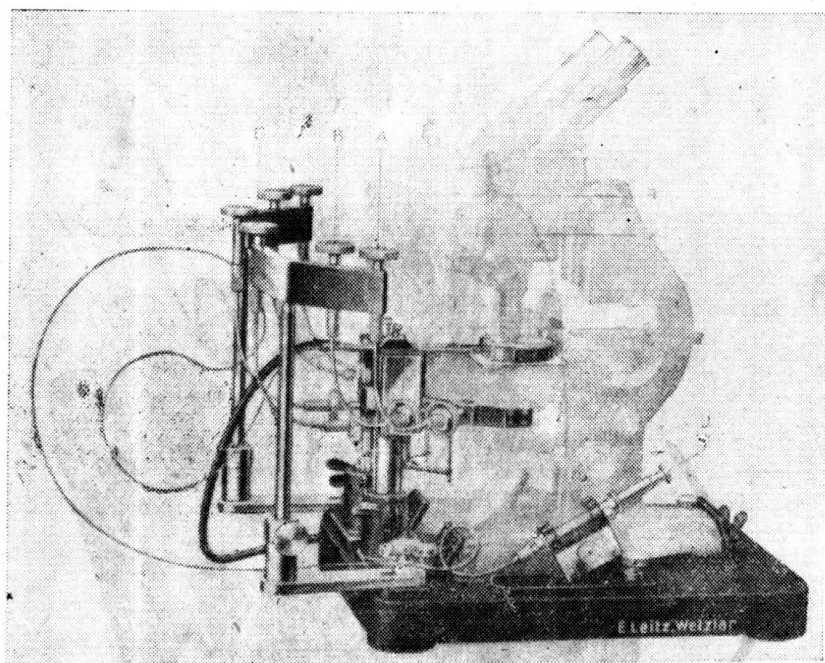


图 5 张伯尔士显微操作器 (改良型)

A. 横动的细螺旋 B. 矢状动的细螺旋 C. 垂直动的细螺旋
F. 湿室 J. 显微吸管的唧筒

伸缩器原理。

比较新一点的操作器是勃罗魏 (J. Browaeys 1943) 按伸缩器原理的显微操作器 (Micromanipulateur à pantographe)。

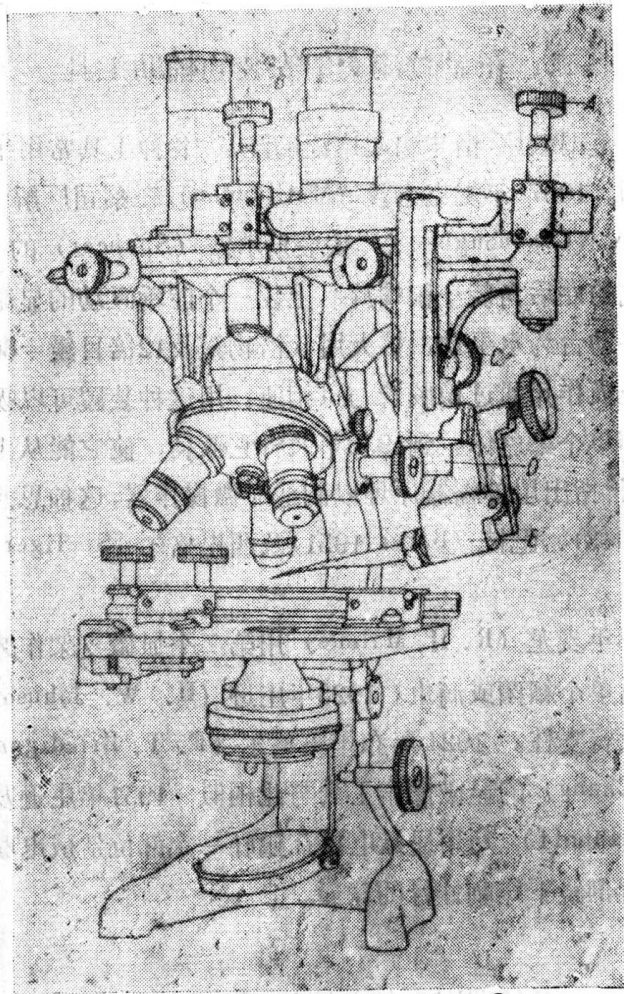


图 6 深肖显微操作器

- A. 垂直动的侧螺旋 B. 横动的侧螺旋
C. 矢状动的侧螺旋 D. 垂直动的弹簧
E. 显微吸管装置

改良查孝汀操作器有瑪卡伊 (A. L. Mackay 1953) 的 (Semi-micromanipulator), 用爱克斯射线来检查最小结晶的轴, 轴在显微镜下可以任意转动, 观察结晶的各个面, 故也可观察单个生物的各个面。

二、在显微镜支架安装的辅助工具

应用范围较广，惜未引起广泛的注意。各种工具常用十字动台作水平动。1907年麦克来敦 (McClendon) 在蔡司厂解剖显微镜 PMXA (Greenough 式) 安装斯喷塞 (Spencer) 的十字动台，在它的左后角装一细螺旋，上装一个能垂直动的显微吸管，利用十字动台为水平动，扩大用5倍物镜及12倍目镜=60倍。而吸管的吐吸作用通过橡胶管与口相连。用这种装置可以吸出分裂期海星卵单个染色体。到1953年又将它改良，使它能从上方作垂直动。他曾指出用伸缩器原理以制造显微操作器，这种思想直到勃罗魏 (1943)、巴拉 (Barer 1951) 及西里格尔 (Seeliger 1950) 才实现。

1918年麦龙 (R. H. Malone) 用第二个显微支架作为吸管支柱以分离单个细菌或滴虫。1923年庄逊 (H. W. Johnson) 建造了一种吸管支柱。1924年布里第格尔 (F. T. Briedigam) 及张 (T. M. Chang) 的显微操作工具与此相似。1951年庄逊及曼霍夫 (L. J. Manhoff) 乃用显微电极在鸡胚一定部位造成电凝点。并在实物解剖镜下穿刺蛙肾的球囊。

三、用手术支柱的显微操作器

这一类操作器种类很多，用途也较广，分为以下几种：

(一) **螺旋推进显微操作器** 最早为孝登 (S. L. Schouten 1905) 的分离工具 (Isoliergeraet)，其目的在于分离单细胞作为细胞培养，以后用于其他方面。其结构只有一个垂直动，而水平动靠滑板来推进 (如图7)。由于显微镜推动的不便，于1934年加以改良，就是将所有的运动器械都集中于手术支柱。

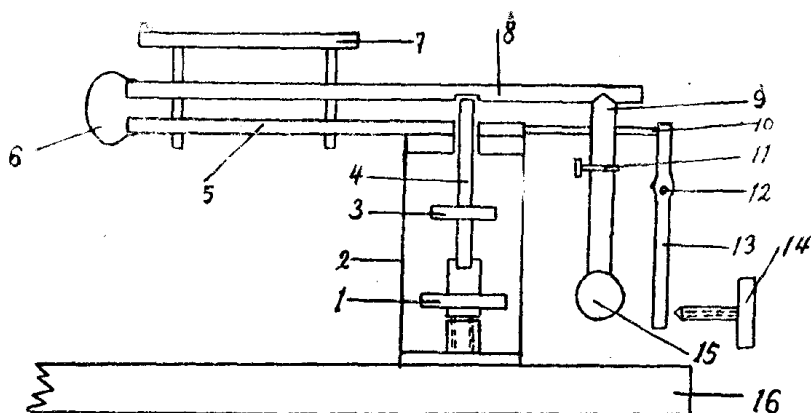


图7 孝登显微操作器

- 1.垂直动的侧螺旋 2.有弹簧的支柱 3.提举4的侧螺旋
- 4.垂直动的螺旋轴 5.下夹板 6.弹簧 7.工具容器
- 8.上夹板 9.矢状动的杠杆 10.横动的牵引杆 11.矢状运动轴
- 12.横动轴 13.横动的杠杆 14.横动侧螺旋
- 15.矢状动侧螺旋 16.基板

张伯尔士于1922年设计的操作器(如图5),显微操作器械固定于垂直支柱上,支柱的数可以任意增加,也能转动。在装卸显微工具时,则转向侧面,以免损伤。柱的高低与载物台相等。后经改良(1952年)更为完善。显微操作器有三个推进螺旋都借曲管作用于推进器A、B、C.,它们并立于显微镜前方。在镜侧基板上装有显微吸管的唧筒(J)。

与张伯尔士同时,尚有杨森(Jansen)和彼得菲以及泰罗的显微操作器。

杨森及彼得菲显微操作器(如图8),成自一个比较大的基板(如图8—1),板中央安置显微镜,镜前方和两侧可安四根支柱,普通只用两根(如图8—5、16)。柱上有特殊运动系统,是向三个方向运动的三组粗螺旋和细螺旋,即垂直动的垂直螺旋(如图8—4、17),左右动的横螺旋(如图8—3、8),前后动的矢状螺旋(如图8—7)。此外尚有一种抛物线动的螺旋(如图8—6),螺旋的准确性与张伯尔士操作器相同。

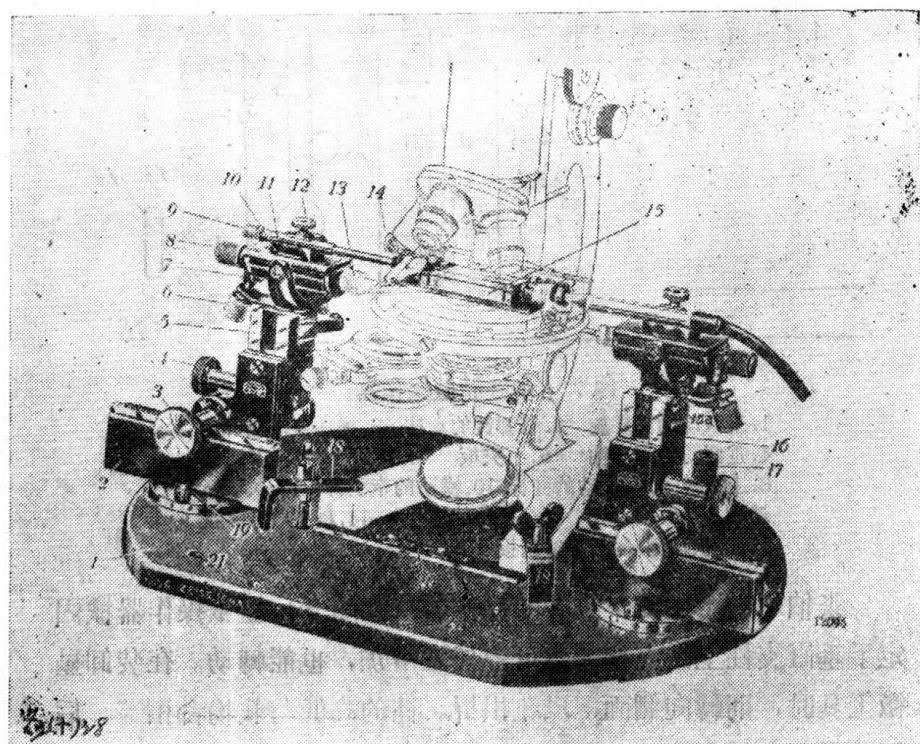


图8 彼得菲显微操作器

- 1.基板 2.横梁 3.左右动粗螺旋 4.上下动粗螺旋 5.支柱的滑道
6.抛物綫动螺旋 7.矢状动細螺旋 8.左右动細螺旋 9.持針杆的鈕
10.持針杆架 11.持針杆 12.固定持針杆的螺旋 13.14.轉动鏡台
的螺旋 15.湿室 16.支柱的滑道 17.上下动細螺旋 18.显微鏡足
固定器 19.固定支柱的螺旋 20.显微鏡足的限止板

各种螺旋的移动虽有一定的方向，但要熟練。考驗各組螺旋的准确性，先移显微針尖到視野中央，用各种物鏡仔細觀察針尖接触湿室上方盖片是否灵活。

此外更有一种簡單操作器，只有一組粗螺旋而无細螺旋，也能向三个方向运动。楊森及彼得菲操作器除分离及穿刺細胞外，尤适合于纖維的牽引試驗。

泰罗的操作器（1925）非常笨重，但不怕震动，二根手术支柱