

实用组织学技术

杜惠民主编



实用组织学技术

杜卓民 主编

上海第一医学院

白求恩医科大学

湖北医学院 编写

湖南医学院

贵阳医学院

人民卫生出版社

实用组织学技术

杜卓民 主编

人民卫生出版社出版

(北京市崇文区天坛西里10号)

四川新华印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

850×1168毫米32开本 $14\frac{1}{4}$ 印张 4插页 362千字

1982年3月第1版第1次印刷

印数：1—7,300

统一书号：14048·4130 定价：1.80元

前 言

组织学技术是医学及生物学领域的重要工作手段，无论在教学或科学研究工作中，凡对人体或动物进行微细结构的观察，大多要靠组织学技术来完成。

《实用组织学技术》是由贵阳医学院、上海第一医学院、白求恩医科大学、湖北医学院和湖南医学院等有经验的技师和有专长的教师共同编写的。本书以实用为主。作者为把自己的实际经验、技术方法介绍给读者，尽量在有关技术中提出一些见解、体会及应该注意的事项。

本书未过多涉及理论性问题。所列的各项技术方法，也以操作简便，试剂、染料效佳易得为原则。因此，我们在选择各种技术方法时，对比较新的材料，仅采纳重复性较好的；对老的传统技术则取经过多年印证、公认为可靠的方法。

全书约 35 万字，共 23 章。前 4 章介绍实验室基本设备、取材、固定、切片，常用试剂、染液及染色法；5 至 15 章分别介绍一些细胞、组织和器官的染色技术；16 至 22 章先后介绍胚胎标本制作法、脱落细胞涂片染色、染色体技术、常用的组织化学方法、放射自显影、荧光显微镜技术及超薄切片法；最后一章介绍显微镜摄影。书末附录介绍溶液浓度计算法，几种缓冲液的制备与组成。另附有主要参考资料。

本书经谷华运、戎诚兴、郭娟霞、尹昕等共同审阅。在编写过程中曾得到白求恩医科大学鲍鉴清教授的大力支持，特此致谢。

由于我们的经验有限，书里难免存在缺点错误，欢迎读者指正。

贵阳医学院 杜卓民

1981 年 3 月

目 录

第一章 实验室基本设备及常用试剂	1
一、基本设备	1
(一) 显微镜	1
(二) 切片机	4
(三) 冷冻切片箱(Cryostat)	6
(四) 磨刀机	6
(五) 自动脱水机	6
(六) 恒温箱与干燥箱	6
(七) 冰箱	7
(八) 离心机	8
(九) 天平	8
(十) 酸度计	8
(十一) 定时钟	8
(十二) 一般手术器械及维修工具	8
(十三) 木器设备	8
(十四) 染色缸与染色架	9
(十五) 载玻片与盖玻片	10
(十六) 常用玻璃器皿	10
(十七) 浸蜡及包埋用具	11
(十八) 其它切片用具	11
二、常用试剂	12
1. 蛋白甘油	12
2. 盐酸-酒精	12
3. 石炭酸-二甲苯	12
4. 碳酸锂饱和水溶液	12
5. 碘酒	12
6. Lugol 碘液	12
7. 苯胺水	12

8. 生理盐水·····	13
9. Ringer 液·····	13
10. Locke 液·····	13
11. 升汞饱和水溶液·····	13
12. 清洁液(洗液)·····	13
13. 酒精稀释液·····	14

第二章 取材及固定·····15

一、动物致死法·····15

二、取材注意事项·····16

三、组织固定法·····17

(一) 固定的方法·····17

(二) 固定的目的·····18

(三) 注意事项及影响固定的因素·····18

(四) 固定剂浸入组织深度参考表·····19

(五) 固定液·····19

1. 单纯固定液·····20

(1) 酒精·····20

(2) 甲醛·····20

(3) 升汞·····22

(4) 醋酸·····22

(5) 苦味酸·····23

(6) 重铬酸钾·····24

(7) 钒酸·····24

(8) 铬酸·····26

(9) 丙酮·····26

(10) 三氯醋酸·····26

2. 混合固定液·····26

(1) 酒精-甲醛液(AF 液)·····26

(2) Carnoy 液·····27

(3) Bouin 液·····27

(4) 苦味酸-硫酸液·····28

(5) Rossman 液·····28

(6) "Susa" Heidenhain 液·····28

(7) Romeis 液	29
(8) 甲醛-醋酸钠(钙)-升汞液	29
(9) Stieve 液	29
(10) Orth 液	29
(11) Zenker 液	30
(12) Helly 液	30
(13) Champy 液	31
(14) Flemming 液	31
(15) Kolmer 液	31
(16) Marchi 液	31
(17) Verhoeff 液	32

第三章 固定后处理及切片 33

一、洗涤与修切 33

二、脱水与透明 34

三、各种包埋法 41

(一) 石蜡包埋法 41

(二) 火棉胶包埋法 45

(三) 碳蜡包埋法 50

(四) 明胶包埋法 51

四、切片、粘片及封固 51

(一) 切片刀与磨刀 52

(二) 石蜡切片法 55

(三) 火棉胶切片法 59

(四) 冰冻切片法 60

(五) 封固与封固剂 63

组织切片制作过程简表 65

第四章 染料、常用染液及常规苏木精-伊红染色法 66

一、染料 66

(一) 染料的性质简介 66

(二) 染料的分类 71

(三) 使用染料时应注意事项 71

(四) 染色原理简介 72

二、常用染液及染色法	74
(一) 细胞核常用染色法	74
1. 苏木精	74
(1) Hansen 铬矾苏木精	75
(2) Mayer 酸性苏木精-明矾染色法	75
(3) Mayer 钾矾-苏木红染色法	76
(4) Delafield 苏木精染色法	76
(5) Ehrlich 酸性苏木精染色法	76
(6) Harris 苏木精染色法	76
(7) Weigert 铁苏木精染色法	77
(8) Mallory 磷钨酸苏木精染色法	77
2. 卡红(胭脂红、洋红)	77
(1) Grenacher 钾矾-卡红染色法	78
(2) Grenacher 硼砂-卡红染色法	78
(3) Orth 锂卡红染色法	78
(4) Mayer 副卡红染色法	78
3. 碱性煤焦油染料染色法	79
(1) Löffler 碱性美蓝染色法	79
(2) Mayer 硫堇或甲苯胺蓝染色法	79
(3) Metzner 铁矾硫堇染色法	79
(4) Winiwarter 沙黄染色法	79
(5) Flemming 沙黄染色法	79
(6) Babes 苯胺沙黄染色法	80
(7) Weigert 裨斯麦棕染色法	80
(8) Pappenhein 甲基绿染色法	80
(9) 碱性品红	80
4. 媒染染料细胞核染色法	80
(1) 核坚牢红	81
(2) Einarson 没食子酸青-铬矾染色法	81
(3) Berube 没食子酸青-铬矾染色法	81
(4) Proescher-Arkush 天青石蓝 B 染色法	81
(5) Einarson 蒽蓝染色法	82
(6) 酸性茜素蓝染色法	82

(二) 细胞质常用染料·····	82
✓ 1. 伊红·····	82
2. 藻红·····	83
3. 焰红·····	83
4. 酸性品红·····	83
5. 光绿及坚牢绿·····	83
6. 其它·····	83
(三) 脂肪染料·····	83
三、苏木精-伊红染色法及多色染色法·····	84
(一) 常规苏木精-伊红染色法·····	84
(二) Damank 苏木精-苦味酸-噻嗪红染色法·····	86
(三) Gray 天青石蓝-丽春红 2R 染色法·····	87
(四) Cajal 品红-苦味酸靛卡红染色法·····	87
(五) Gabe-MsMartoje 三色染色法·····	88
(六) 苏木精-伊红整块染色法·····	88
第五章 细胞器 ·····	91
一、线粒体·····	91
(一) 材料与固定·····	91
(二) 切片与染色·····	91
1. Heidenhain 铁苏木精染色法·····	91
2. Regaud 铁苏木精染色法·····	92
3. Altmann-Meves 酸性品红染色法·····	92
4. Altmann-Kull 酸性品红-甲苯胺蓝染色法·····	93
5. Seki 硫酸钠茜素-品红染色法·····	94
6. Cowdry 漂白法·····	94
二、高尔基复合体·····	95
1. Cajal 硝酸铀法·····	95
2. Da-Fano 改良 Cajal 法·····	95
3. Baker 苏丹黑B 染色法·····	96
三、中心体与染色体(细胞分裂)·····	97
(一) 材料的选择·····	97
(二) 固定与切片·····	97
(三) 染色法·····	97

1. Hickson 巴西木素染色法	97
2. Ehrlich-Biondi 染色法	98
3. Paulette-Vanerll 白细胞及淋巴细胞中心体染色法	99
4. Hall 品红-苦味酸-靛卡红染色法	99
第六章 纤维性结缔组织	100
一、胶原纤维	100
1. Van Gieson 染色法	100
2. Mallory 三色染色法	101
3. 武兆发改良 Mallory 三色法	101
4. Masson 三色染色法 (改良法)	102
5. Heidenhain "AZAN" 染色法	103
二、弹性纤维	105
1. 醛品红染色法	105
2. 地衣红染色法	106
3. Verhoeff 碘-铁苏木精染色法	106
4. 碱性蓝 B 染色法	107
5. Weigert 弹性纤维染色法	108
三、网状纤维	109
1. Foot 染色法	110
2. Gordon-Sweet 染色法	111
3. Humason-Lushbaugh 染色法	112
4. Gomori 染色法	113
5. Wilder 染色法	114
6. 综合简便法	115
7. 网状纤维镀银块染法	116
四、组织细胞及成纤维细胞	117
1. 台盼蓝注射 HE 染色法	117
2. 铁矾苏木精染色法	118
五、成纤维细胞的培养与制备	119
六、肥大细胞 (肥大细胞染色简表)	121
七、浆细胞	122
1. 天青 I-伊红染色法	122

2. Unna 多色性甲基蓝染色法	123
第七章 软骨及骨	125
一、软骨	125
二、骨	125
1. 骨磨片	125
2. 镀银法显示骨陷窝及骨小管	126
3. 染料染色法显示骨小管	127
(1) 酸性品红染色法	127
(2) 结晶紫或大力紫染色法	127
4. 骨的脱钙及切片	128
三、骨发生	132
1. 茜素红-多色性美蓝染色法	132
2. Von Kossa 改良法	133
第八章 血液及骨髓	134
一、血液和骨髓涂片技术	134
二、涂片的染色	135
(一) Wright 染色法	135
(二) Giemsa 染色法	136
(三) Wright-Giemsa 混合染色法	136
(四) May-Grünwald 染色法	137
三、网织红细胞煌焦油蓝染色法	138
四、血细胞超活体染色法	139
(一) 中性红-耶那绿干染色法	139
(二) 中性红-耶那绿湿染色法	140
五、骨髓切片	141
苏木精-美蓝-天青Ⅱ-伊红染色法	141
六、血细胞常用组织化学染色法	143
(一) 核酸	143
(二) 多糖	143
(三) 蛋白质	144
(四) 酶	144
1. 单胺氧化酶显示法	144

2. 过氧化酶显示法	145
第九章 肌肉组织	147
(一) Mallory 磷钨酸苏木红或苏木精染色法	147
(二) Heidenhain 铁矾苏木精染色法	149
(三) 碘酸钠-苏木精块染心肌闰盘法	150
(四) 平滑肌分离标本制作法	151
第十章 神经组织	153
一、神经组织的处理过程及应注意事项	153
二、神经组织的一般染色	156
三、神经细胞胞体的染色	156
(一) Golgi 镀银法	156
(二) 灌注的快速 Golgi 法	159
(三) Cox 法	160
(四) Cox-钨酸盐改变法	160
(五) Nissl 法染“虎斑”(“尼氏体”)	162
(六) 长期固定于甲醛液的陈旧材料染色法	163
四、脊髓前角细胞分离标本制作法	164
五、神经原纤维及神经末梢	165
(一) Ramon y. Cajal 各法	165
1. Cajal 氨酒精法 (Ⅱ)	165
2. Cajal 吡啶法 (V)	166
3. Cajal 水合氯醛法 (Ⅵ)	166
(二) Holmes 法染神经原纤维	167
(三) Cajal-Favorsky 法染周围神经	168
(四) Bielschowsky-Gros-Lawrentjew 法	169
(五) Ranson 吡啶-银法显示无髓纤维	171
(六) 吡啶-银法显示毛囊神经末梢	171
六、De Castro 内耳双极神经细胞显示法	172
七、肠肌丛镀银显示法	173
八、胚胎性神经组织的改良银染法 (Rager 等)	174
九、运动终板、肌梭、腱梭及环层小体的氯化金法 (Ranvier 改变法)	175

十、显示突触法	177
(一) Golgi-Дейнека 法	177
(二) Rasmussen 法	178
十一、髓鞘染色法	179
(一) 髓鞘漏斗膜 (Schmidt-Lantermann 裂隙) 的 Cajal 显示法	179
(二) Weigert 染髓鞘法	180
(三) Pal-Weigert 染髓鞘法	181
(四) Kultschizky 改良法	182
(五) Weil 髓鞘染色石蜡切片法	183
(六) 劳克坚牢蓝-焦油紫同时染髓鞘及尼氏体法 (Klover- Barrera)	183
十二、溃变纤维显示法	185
(一) Swank-Davenport 法	186
(二) Nauta 法 (1957)	187
(三) Fink-Heimer 法 (1967)	189
(四) Ebbesson-Robinson 双重银法 (1970)	190
十三、神经胶质	191
(一) Del Rio-Hortega 碳酸银法显示小胶质细胞 (Panfield 改良法)	192
(二) Grono 法显示少突胶质细胞	193
(三) Ramon y Cajal 氯化金升汞法显示星状胶质细胞	194
(四) Marchalls 法显示小胶质和少突胶质细胞	195
十四、整个人脑切片制作法	196
(一) Mulligan 大脑厚切片染色法	197
(二) 大脑厚切片油红O染色法	198
(三) Einarson 没食子酸青染灰质神经细胞法	199
(四) Weil 苏木精染髓鞘法	200
十五、辣根过氧化酶 HRP 微量注射与离子透入法	201
(一) 辣根过氧化酶微量注射法	201
(二) 辣根过氧化酶离子透入法	203
第十一章 血管, 血管注射技术, 心脏及淋巴器官	205

一、毛细血管及大网膜铺片	205
(一) Wright 染色显示毛细血管	205
(二) 镀银法显示内皮	205
二、各型动、静脉的染色	206
苏木精-复制伊红染色法显示大动脉弹性膜	207
三、血管注射技术	208
(一) 注射胶液的配制	208
(二) 注射过程	209
四、心脏	210
五、淋巴器官	210
第十二章 消化系统及呼吸系统	211
一、消化系 统	211
(一) 取材与固定	211
(二) 消化管的上皮细胞	212
1. 表面上皮的 PAS 染色	213
2. 胃腺主细胞 (酶原细胞) 染色	214
3. 胃底腺壁细胞 (盐酸细胞) 染色	214
4. 小肠潘氏细胞 (Paneth 细胞) 染色	214
5. 嗜银或亲银细胞	214
(三) 胰腺	218
1. Mallory-Heidenhain-Azan 染色法	218
2. Gomori 醛复红染色法	220
3. Gomori 铬明矾-苏木精-焰红法	221
(四) 肝脏	222
1. 贮脂细胞	222
2. 胆小管	223
3. 肝 Kupffer 细胞 (星状细胞) 显示法	224
二、呼吸系 统	225
(一) 取材、固定包埋及染色	225
(二) 纤毛运动新鲜标本观察法	226
(三) 肺泡上皮镀银法 (Joker)	226
(四) 肺泡 I 型细胞染色法 (McNary)	227

(五) 气管上皮分离标本制作法·····	227
第十三章 泌尿及生殖系统 ·····	229
一、泌尿系统 ·····	229
(一) 肾的常规染色·····	229
1. 球旁细胞结晶紫染色法 (Harada) ·····	229
2. Bowie 球旁细胞颗粒的猩红-乙基紫染色法·····	230
(二) 膀胱的一般染色·····	230
二、生殖系统 ·····	231
(一) 两性生殖器官一般染色·····	231
(二) 睾丸间质细胞染色法 (Threadgold) ·····	231
第十四章 内分泌腺 ·····	232
(一) 甲状腺滤泡旁细胞染色法·····	232
(二) 肾上腺嗜铬细胞染色法 (Wiesel) ·····	233
(三) 肾上腺嗜铬细胞染色法 (Orth) ·····	233
(四) 肾上腺脂肪·····	233
(五) 松果体细胞改良染色法 (Achucarro-Hortega) ·····	234
(六) 脑下垂体·····	234
1. 垂体神经部·····	235
2. 垂体腺部·····	235
(1) Adams-Swettenham 法·····	235
(2) Paget-Eccleston 法·····	235
第十五章 皮肤、眼球及内耳 ·····	238
一、皮肤 ·····	238
(一) 皮肤一般染色·····	238
(二) 黑色素细胞·····	238
1. 多巴黑色素反应石蜡切片法·····	239
2. 多巴黑色素反应冰冻切片法·····	240
3. -SH 基的铁氰化物显示法·····	241
4. -SS 基的过甲酸-Schiff 显示法·····	242
(三) 细胞间桥·····	243
二、眼球 ·····	243
(一) Szent-Gyorgyri 固定眼球切片法·····	243

(二) 复方甲醛固定眼球法·····	244
三、内耳·····	245
内耳一般染色·····	245
第十六章 胚胎标本制作法 ·····	246
一、两栖类胚胎标本的制作·····	246
(一) 卵的受精·····	246
(二) 卵裂、囊胚、原肠胚及神经胚·····	246
(三) 固定与固定液·····	247
1. Gilson 升汞-硝酸混合液·····	247
2. Romeis 升汞-三氯醋酸混合液·····	247
3. Gilson-Petrunkewitch 混合液·····	247
4. Smith 改良 Tellesniczky 液·····	247
5. Whitman 脱胶膜法·····	248
6. Schultze 脱胶膜法·····	248
(四) 脱水及包埋·····	248
(五) 染色·····	248
二、鸡胚标本的制作·····	248
(一) 孵育法·····	248
(二) 取胚法·····	249
(三) 固定·····	250
1. McClung 甲醛-硝酸混合液·····	250
2. Kleinenherg 苦味酸-硫酸混合液·····	250
(四) 染色·····	250
(五) 切片及完整标本制作·····	251
三、猪胚标本的制作·····	251
HE 整体染色法及连续切片·····	251
四、小白鼠胚胎标本的制作·····	254
(一) 小白鼠的选择·····	254
(二) 胎龄的确定·····	255
(三) 取材·····	255
(四) 标本制作·····	255
鼠胚透明标本骨骼染色法 (Dawson 改变法)·····	256

第十七章 脱落细胞涂片染色法	258
一、癌细胞涂片染色法	258
(一) 取材注意事项.....	258
1. 女性生殖道脱落细胞的取材.....	258
2. 食管脱落细胞的取材.....	258
3. 痰液脱落细胞的取材.....	258
4. 胸、腹水中脱落细胞的取材.....	259
5. 胃液、尿液中脱落细胞的取材.....	259
6. 乳腺及前列腺分泌物的取材.....	259
(二) 固定.....	259
(三) 染色.....	260
1. 常规 HE 染色法.....	260
2. 巴氏 (Papanicolaou) 涂片染色法.....	260
3. 邵氏 (Shorr) 染色法.....	264
4. 改良的 May-Grünwald-Giemsa 染色法.....	264
5. 吖啶橙荧光染色法.....	265
二、性染色质染色法	266
(一) 取材.....	266
(二) 固定.....	266
(三) 染色.....	266
1. Moore 焦油紫染色法.....	267
2. Guard 猩红-坚牢绿染色法.....	267
三、羊水细胞染色	268
第十八章 染色体技术	270
一、染色体简介	270
二、实验室设备	270
(一) 仪器.....	270
(二) 器材.....	270
(三) 培养基及其它试剂.....	271
1. 199 培养液.....	271
2. 1640 培养液.....	271
3. 0.5% 水解乳白蛋白培养液.....	271