

組 織 培 養 術

鮑 鑑 清 著

中 華 醫 學 會

組 織 培 養

鮑 鑑 清 編

中 華 醫 學 會

組織培養術

編著者 鮑 鑑 清
出版者 中華醫學會
總發行 中國圖書發行公司

1953年6月

每冊售人民幣 5 000

前 言

十九世紀末葉(1878年)李那氏 (Claude Bernard) 認爲組織的生長動力，完全仰仗其內部環境的物理化學情況與其本身化學成份來調節而成。根據這種理論上的認識，羅克士氏 (Wilhelm Roux) 在1884年創造了組織培養的方法，將從動物體內取得的生鮮組織，在人工培養基內，使其繁殖，生活下去。後經許多學者在技術上的改善，使它已成爲一個新的系統。在實驗生物學上，醫學上，特別是細胞學、細胞生理學、病理學、細菌學以及實驗形態學等方面，得到了廣泛的應用，而以上各科應用這種新技術也有了很大進步。

在中央人民政府衛生部提出了研究與推行組織療法號召之後，我們組織學系同志和全國各地其他醫療機構的同志一樣地響應了這一號召，我們在研究組織療法的效果上，組織貯藏的方法上，獲得了一些成績。但在研究過程中客觀事實又向我們提出了一些新的問題，它引導我們必須繼續研究下去。根據這種客觀事實向我們提出的問題，我系同志用組織培養的方法展開了研究，並且初步地證實生鮮組織經過冷藏後，在給與適當的生活條件下，它可以繼續生長發育，就經過冷藏時日相當長的組織也是同樣的。我想這樣就可以想到費拉托夫氏所以採用冷藏七天的組織作爲組織療法之用的道理，同時對生物原刺激素在冷藏過程中產生的時期與消長的情況，也可能獲得解決的。

據我知道，有些研究機關中，某些醫學院內在研究組織療法的前提下，準備開展組織培養工作，以求對組織療法在理論上作進一步的探討。所以這樣，我想是由於組織療法在臨床醫學方面收到了很大的效果，它使人注意而信仰的結果。

從以上的情況着眼，從我國近年來在醫學上飛快的進展、組織培養也將爲各科所廣泛應用着想，是需用組織培養這方面的技術書籍的，

但中文的這類書籍恐怕是很少很少，爲了對開展這方面工作有所幫助，就是我寫這本書的目的。不過這本書的內容很簡單，希望國內學者，寫一本詳細的組織培養，則這本小冊子可以達到了拋磚引玉的目的。

最後我特別感謝的就是王鳳振教授及于頻醫師給我許多意見和改正，李靜菽醫師及陳佛痴同志爲本書畫了許多插圖鄭世彬醫師對本書稿校讀一遍，這都是使我不能忘的

鮑鑑清 1953.2.

目 錄

緒 言

第一章 設備及器械

第一節 手術室及其設備	2
一 手術室	2
二 器 械	2
三 器械的消毒	5
四 器材的塗蠟	6
第二節 工作室的設備	6

第二章 中間液的配製

第一節 洗滌液及培養液	7
一 生理鹽水	7
二 林格氏液	7
三 陸克氏液	7
四 陸克——李微氏液	8
五 梯羅突氏液	8
六 梯羅突——弗來希氏液	8
第二節 培養液	9
一 蛙血漿	10
二 蛙脾汁	12
三 蝌蚪汁	12

四	眼房水	13
五	髓血漿	13
六	髓脾汁	13
七	貓血漿	14
八	犬血漿	15
九	兔血漿	15
十	家鼠及天竺鼠血漿	15
十一	人血漿	15
十二	雞血漿	15
十三	雞胎汁	19
十四	家鼠及小白鼠胎汁	20
十五	骨髓汁	20
十六	淋巴球浸出液	20
十七	血清之獲得	21
十八	動物麻醉時的注意	21
十九	肝素或肝磷脂的應用	21

第三章 培 基

第一節	懸滴標本	22
一	單層培养基及二層培养基	23
二	懸滴標本改良法	24
第二節	D 瓶培养基	26
第三節	鍍玻璃培养基	27

第四章 培养基的固定及染色

第一節	完全標本	27
-----	------	----

一 固 定.....	27
(一) 秦克氏液	28
(二) 奧脫氏液	28
(三) 卡惱氏液	29
(四) 商卑氏液	29
(五) 甲 醛	29
二 染 色	29
(一) 蘇木精	29
1. 漢森氏蘇木精	29
2. 梅爾氏酸性蘇木精	30
3. 德拉費氏蘇木精	30
4. 海登漢氏鐵蘇木精	31
5. 黑貴士氏鐵蘇木精	31
6. 黑突氏鉍酸蘇木精	32
(二) 伊紅	32
(三) 奇姆沙氏液	32
(四) 麥西莫夫氏法	32
(五) 費爾氏線粒體染色	35
(六) 范其松氏法及彈力纖維染色	35
(七) 脂肪染色	34
(八) 肝糖染色	34
(九) 法爾根氏核酸反應	35
第二節 切片標本.....	36
一 封蠟包埋.....	36
二 綿膠包埋.....	36
三 明膠包埋.....	37

第五章 各種組織的培養

第一節 蛙的皮膚	37
上皮組織的生長	44
第二節 間葉組織	50
一 間葉組織	50
二 網狀細胞	55
(一) 蛙的脾	55
(二) 鼠胎的脾	55
(三) 幼鼠的脾	57
(四) 新生鼠的脾	57
三 骨髓細胞	58
四 吞喰現象及巨大細胞的形成	62
五 生活細胞的分裂及其含有物的出現	63
六 細胞的死亡現象	66
七 軟骨及骨	69
八 骨的再生	70
第三節 肌組織	74
一 羊膜的平滑肌	74
二 心肌細胞	77
三 橫紋骨骼肌	79
四 成長動物的平滑肌	80
第四節 神經組織	83
第五節 炎症性圓形細胞的來源	88
第六節 腫瘤的培養	90
第七節 細菌與活細胞的關係	95

緒 言

組織培養 (Explantation) 這個名字，由羅克士 (Roux) 最早命名的。

組織培養可分為全部培養及部分培養。

全部培養是用一個細小生物來培養的，部份培養用一個器官、器官的一部、組織及細胞等，離開生物體，在非生活的中間液，長時或短時保持其生活狀態。

羅克士氏於1884年曾用雞胚中央部，哈里遜氏 (Harrison) 1907用蝌蚪髓管，1912年魏潑氏 (Whipple) 及華爾資氏 (Worther) 用雞胎，1913年勃拉哈氏 (Brachet) 用兔胚泡，以及近來李徵氏 (Lewis) 及哈脫曼氏 (Hartman) 對於猴的受精卵作為全部培養。部分培養也可稱為組織培養。不過部分培養的組織不是全能增生。但在培養中見其分解及變更等現象。而細胞生長量方面，由絲狀分裂以實現之。

體外移植 (Explantation) 與移植 (Transplantation) 不同，因為移植的組織與別的生活體有連繫，而體外移植即組織培養乃採取組織放入非生活性中間液。皮膚、髓、韌帶由某部分採取後仍種植於牠的本身，稱為同體移植。若以某甲的組織種於某乙身上稱為同種移植。若以動物組織移植於人體，稱為異種移植。

種入或稱埋藏 (Implantation) 與介種 (Interplantation) 的不同點，即種入的組織片，長久保存而且能利用其能力，是為種入。若移植的組織片，只能起一種媒介作用或介紹作用，稱為介種或稱作用性補充物 (如哺乳類的皮)。

本書所述，專就部分的培養即組織培養，其餘不在本書敘述之例。

第一章 設備及器械

第一節 手術室及其設備

一、手術室

手術室專供取血及作培養液之用，地面最好爲水泥地能消毒，光線要充足，中央置手術台，旁置工作台一、二張，室中保持可能的無菌狀態。而且最好能保持一定溫度。

二、器 械

一、電力離心器（每分鐘至少 3,000 轉）：沉澱管外套管能放水塊更好。

二、溫箱 38°—39°C，電氣調節。

三、電氣冰箱。

四、手術台。

五、乾燥消毒器。

六、蒸器消毒器。

七、濾過消毒器：才資式(Seitz)或倍克費爾式(Berkefeld)。

八、玻璃器材：

1. 大玻璃直徑 23 厘米，高 8 厘米。

2. 長方形磁皿，放置載片用。

3. 平皿。

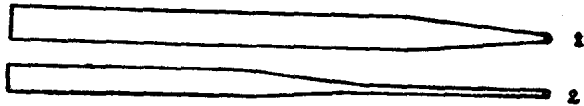
4. 帶蓋小玻璃皿。

5. 小試管

6. 小錐瓶：放血漿及胎兒抽出液或胎汁等用。

小瓶亦可。

7. 厚壁沉澱管。
8. 刻度厚壁沉澱管。
9. 厚壁試管。
10. 試管：長 10 厘米，口徑 7 毫米。
11. 試管：長 10 厘米，口徑 13—14 毫米。
12. 有凹載片：凹直徑 20 毫米，深 1.5 毫米。
13. 蓋玻片：22 毫米，厚 0.20—0.22 毫米。
14. 雲母蓋片：大小如上。
15. 吸管：長 20 厘米（第 1 圖 1）。



第 1 圖 吸管及滴管

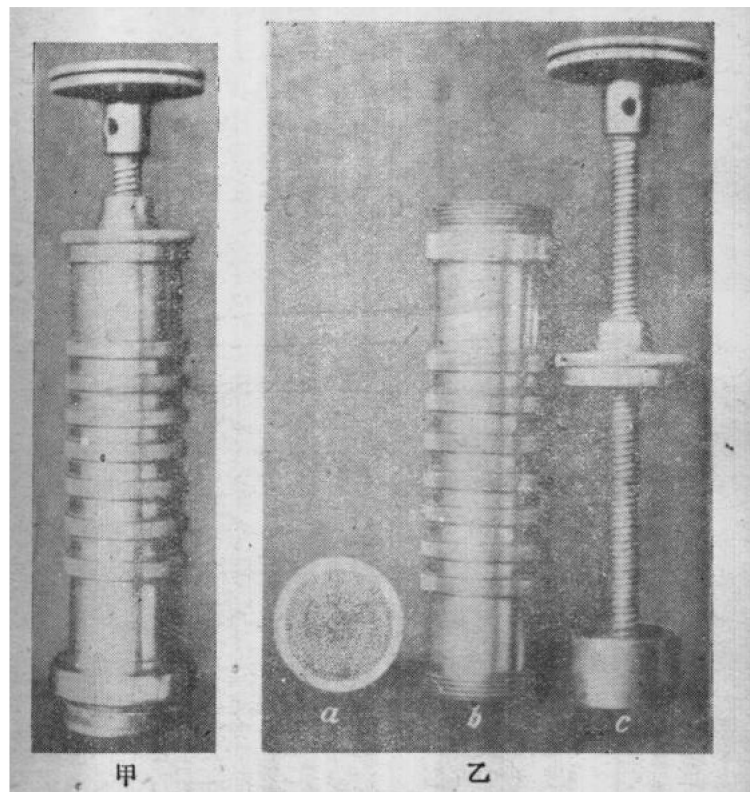
1. 吸管
2. 滴管

16. 滴管：長 20 厘米（第 1 圖 2.）。
17. 刻度吸管及刻度滴管：長 20 厘米。
18. 注射針：內容 1, 2, 5, 10, 20 毫升針頭備粗細二種。
19. 毛細吸管。
20. D 瓶或凱銳爾(Carrel)氏瓶 直徑 5—2¹/₂ 厘米。
21. 錶玻璃：直徑 35 毫米。

九、金屬器材：

1. 直剪：一端尖，一端鈍。

2. 彎剪。
3. 小剪。
4. 大小鑷子，小的長6—8厘米。
5. 白內障刀。

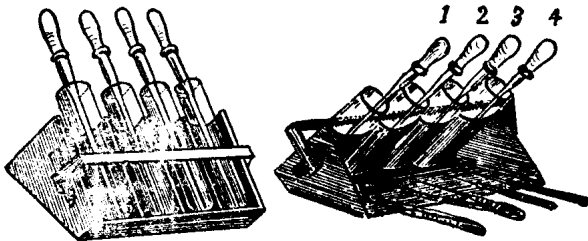


第 2 圖 雞胎壓榨器

甲、未拆開

乙、拆開

6. 卡貝氏 (Kapel) 上皮刀。
7. 分離針 金屬柄。
8. 動脈鉗。
9. 止血鉗。
10. 雞胎壓榨器 (第2圖)。
11. 銅製吸管架 (第3圖)。



第 3 圖 吸管架

- | | |
|-----------|----------|
| 1. 血漿吸管 | 2. 胎汁吸管 |
| 3. 林格氏液吸管 | 4. 預備用吸管 |

12. 白金耳

十、其他器材：

1. 橡皮帽：吸管及滴管用。
2. 白色或黑色桌布：最好用麻質，邊緣要縫好。
3. 酒精燈。
4. 凡士林 (最好用黃色)。
5. 封蠟。
6. 毛筆及有色蠟筆。

三、器械的消毒

一、玻璃器材的消毒：未用過的先浸在清水內，洗滌後，用肥皂水煮沸，用刷洗淨，流水洗，蒸水洗，然後拭乾。玻片及雲母片煮沸

洗滌，加酒精少許，冷後再洗，用麻布拭乾，保存於有蓋玻璃皿內。

用過的玻璃器材，放入下液（淨洗液）1—3日。

蒸水 1,000 毫升

重鉻酸鉀(Kalium bichromicum) 100 克

加溫溶化，冷後注意注加

粗製濃硫酸 100 毫升

在上液經1—3日，取出放入1—5% 氫氧化鉀或氫氧化鈉稀液內約一日，取出後用流水沖洗過夜或4—6時，蒸水洗2—3時然後拭乾。

上液的腐蝕性很強，取出玻璃器材時，不得用金屬鑷子！

玻璃器材乾燥後，各用紙包裹，然後用高壓乾燥消毒器消毒。消毒完了，俟其冷卻，然後保存於冰箱中。

二、金屬器材的消毒：也用乾燥消毒，消毒前後的處置如上。萬不得已時煮沸消毒，放入1%重碳酸鈉(Natrium bicarbonicum)水煮15分鐘或放入70%酒精一小時，再用消毒布擦乾。

三、其他器材：橡皮帽用蒸水煮15分鐘，桌布等用蒸氣消毒半小時。凡士林及封蠟都先用乾燥消毒。

四、器材的塗蠟

注射器、吸管、滴管、試管、沉澱管等為取血及製血漿之用，防血液凝固。故消毒後於其內面，塗以薄層消毒封蠟，塗灌時勿使管口閉塞，塗灌封蠟後即將其包於消毒布，保存於冰箱中。要注意注射器內蠟層是否適合；若防其過緊不如塗以凡士林為佳。

第二節 工作室的設備

工作室不必太大，光線要充足，不作他用。室中只置一桌，上鋪消毒白布或黑布，在右側放銅製試管架(第3圖)，斜放試管4個，每個放一帶有橡皮帽的滴管。架內側放置白內障刀、大小鑷子、小刀。架的右側放大玻管，內盛消毒吸管及滴管。桌中央前方放酒精燈，大

玻皿二個；一個空的，一個內放消毒有凹載片。帶蓋小玻皿二個及有蓋片小玻皿一個。左側放置血漿、抽出液、洗滌液及長磁盒。工作桌的右側置小桌一張，上放熔化凡士林及封蠟，毛筆一支。

工作室外間最好爲手術室，內有電氣離心器、冰箱及溫箱的設備。電氣離心器在用前應試驗之，檢查其是否可用。

第二章 中間液的配製

第一節 洗滌液及培養液

一、生理鹽水

變溫動物用0.65%，常溫動物用0.9%。

二、林格氏(Ringer)液

處方如下：

NaCl	0.85 (變溫動物用0.7)
KCl	0.025
CaCl ₂	0.3
H ₂ O	100.0

CaCl₂最後加入，否則不溶。用以稀釋血液及洗滌組織。

三、陸克氏(Locke)液

處方如下：

NaCl	0.9 (變溫動物用0.65)
KCl	0.042
CaCl ₂	0.025
NaHCO ₃	0.02
H ₂ O	100.0

配時依序在水內溶化，配成後不得煮沸，否則 CO_2 游離與 Ca 結合而成不溶性沈澱的碳酸鈣 (Calcium carbonate)。若加入雞肉汁或牛肉汁 10—15 毫升即可應用，不必再加血漿。

陸克氏液，先配成幹液：如 9% NaCl ；1% KCl ；1% CaCl_2 ；10% NaHCO_3 ；10% 葡萄糖，可以各別煮沸消毒，用時以 NaCl 20 毫升， KCl 4 毫升， CaCl_2 4 毫升，葡萄糖 5—10 毫升混合，最後加 NaHCO_3 0.4 毫升，用消毒蒸水稀釋至 200 毫升。

四、陸克—李微氏 (Locke-Lewis) 液

陸克氏液	90 毫升
雞肉汁	10 毫升
葡萄糖	0.25 克

五、梯羅突氏 (Tyrode) 液

NaCl	8.0	NaH_2PO_4	0.05
KCl	0.20	NaHCO_3	1.00
CaCl_2	0.20	葡萄糖	1.00
MgCl_2	0.10	蒸水	1,000.0

上液不能加熱消毒，用倍克費爾或才資式濾過器濾過。

配成後其 pH 為 7.5—7.6 據潑里姆氏 (Plimmer) 分析，其酸鹼度與血漿幾相等。

費脫氏 (Vetter) 以梯羅突氏液對組織生長比林格氏液好，其缺點即不能加熱消毒。磷酸鹽沉澱雖然冷後可溶，但不為均勻性，用強倍鏡及生活檢查時不清晰，而磷酸鹽沉澱由於氫游子濃度的變化，乃減少其緩衝力，蓋應用梯羅突氏液即利用其緩衝作用。

六、梯羅突氏—弗來希氏 (Tyrode-Fleische) 液

I 液		II 液	
NaCl	8.0	CaCl_2	0.2