

組織化學

人民衛生出版社

組 織 化 学

著者: A. G. E. 皮 尔 士

譯者: 馬 仲 魁 郑 仁 風

人 民 衛 生 出 版 社

一 九 六 〇 年 • 北 京

內 容 提 要

本書涉及全部显微組織化学的理論和实际, 对于重要的組織化学变化叙述簡單扼要, 並列入有关的化学式; 对于現有的組織化学方法, 作了詳尽的批判性的介紹, 並指出其应用范围和效果。

本書涉及組織化学的历史、固定化学、冻干法制备組織、蛋白質和氨基酸、重要單純蛋白和結合蛋白的組織化学、碳水化合物、类脂及脂蛋白、醛和酮、酶、色素、無机成分的組織化学以及研究組織化学的物理方法等十七章。每章均附有操作技术和方法, 便于参考应用。

HISTOCHEMISTRY THEORITICAL AND APPLIED

BY

A. G. EVERSON PEARSE

Little, Brown and Company Boston

Reprinted 1954

組 織 化 学

開本: 850×1168/32 印張: 15 $\frac{3}{16}$ 插頁: 21 字數: 420 千字

馬 仲 魁 郑 仁 風 譯

人 民 衛 生 出 版 社 出 版

(北京書刊出版業營業許可証出字第〇四六號)

• 北京崇文區棧子胡同三十六號 •

北京五三五工厂印刷

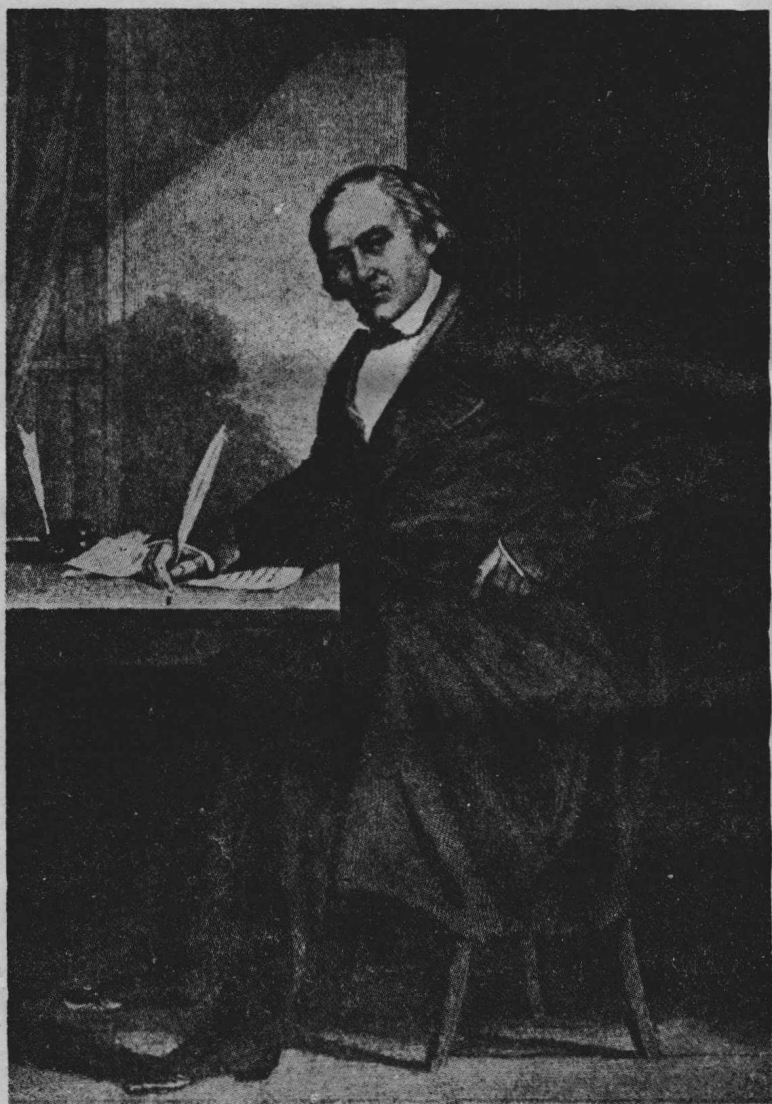
新华書店科技發行所發行 • 各地新华書店經售

統一書號: 14048 • 1727

定 价: 3.20 元

1959年4月第1版 第1次印刷

1960年2月第1版 第2次印刷
(北京版) 印數: 3,301—4,500



序 言

組織化学可使生物学、組織学、病理及动物学等叙述科学成为动态及机能性質的科学，以便作为生理学及生物化学的輔助科学。組織化学在上述各科中广泛应用已久，只有在上述科学中加深探討，取其长处去其短处，才能使之有所發展。

本書在应用于組織切片上，力圖涉及全部組織化学。因此，其中所涉及的范围，是显微組織化学的理論及实践方面。我从开始即在不同的领域中应用了各种現有的实验方法，並且对某些方法加以改良，对某些無用的方法則予略去。但是，書中也包括了我尚未用过的方法，我在書中作了說明。对每个方法，我曾从理論上加以說明，並且对该法的应用目的和范围加以評述。組織化学在生理及病理問題上的現代应用詳情，在書中也有論述，並有專章討論硬蛋白。

每章附有技术操作附录，包括有关的操作方法，为使成一系統，故全部附于書后。

書中所列的化学部分，我想是應該的。因为沒有不包括化学的組織化学，沒有化学基础，也不可能了解它的操作方法。所列的化学式是有用处的，它表示化学反应实际的簡明內容，不是毫無意义的符号。

在此我想声明一点，書中所列方法，如加以間接重复引用，除非应用于特殊問題，否則是没有价值的，並且，在引用时也应注意，勿以单独某个試驗結果，做出絕对的結論。如果对于相同的試驗有若干試法，則应多方应用才好。

組織化学的發展，与应用它的各个領域关系密切。目前，还有不少問題和相应的方法尚待探討，凡与組織切片有关的工作人員，不管常規或研究，都須成为应用的組織化学家，才能使這門科学日臻完善。

A. G. E. 皮尔士

目 录

序言

第一章	組織化学的历史	1
第二章	固定化学	12
第三章	用冻干法制备組織	27
第四章	蛋白質和氨基酸	44
第五章	几种重要單純蛋白質的組織化学	79
第六章	結合蛋白質(核蛋白类)	98
第七章	碳水化合物	132
第八章	类脂及脂蛋白	162
第九章	醛和酮	186
第十章	酶I(硷性磷酸酶)	212
第十一章	酶II(酸性磷酸酶)	240
第十二章	酶III(其他酯酶及糖甙酶)	253
第十三章	酶IV(氧化酶及去氫酶)	284
第十四章	作为組織化学試剂的酶	306
第十五章	色素	331
第十六章	無机成分	363
第十七章	物理方法	372
附录:	1—17	387

第一章 組織化学的历史

按照 Lison 氏所說，組織化学是一門和組織学一样老的科学，一般在这点上沒有異議。但是，在考虑新組織化学是否繼承着旧組織化学的时候，意見則有分歧。一方面的意見，也是 Lison 氏所坚决主張的，認為現代組織化学与一百年前的組織化学根本不同。他說：“現代的組織化学可以說是重新建立起来的、和以前截然不同的一門嶄新科学”。另一方面的意見，也是我自己所贊成的，認為組織化学的發展是一直繼續下来的，其目的和原理直到今天實質上仍然和过去相同。这样說並不意味着組織化学在發展过程中不曾有过各种各样的变更和改进。但是，組織化学無論如何也难能比化学和生物化学这两門与它血肉相关的科学發展更快，因为組織化学要靠这两門科学的啟示和指导。

这里所談的組織化学历史概觀，曾在組織化学現代方法的一个論文 (Pearse, 1951) 中以更簡短的形式登載过，意在使这个最年輕同时也是生物科学中最老的科学之一的組織化学的繼續性有一真实的概貌。作为一个結論，下面列出主要历史的一覽表，这决不是一个完整的材料，但它是一个概觀，在这个基础上可以把后面举出的互無联系的个别文献串連起来。

- 1800—29 有一些零星报告，其中涉及組織标本中化学与形态学結構对立的研究。組織化学尙未成为一門独立科学。
- 1830—55 这是組織化学作为一門科学而开始的年代，其發端最初起源于植物学；这几十年間，組織化学的整个实践實質上集中在植物学家們的手中。这个时期在这方面出現了各种著作：Raspail 的“Essai de chimie Microscopique Appliquée à La Physiologie” (1830) 和“有机化学的新系統” (Nouveau Système de Chimie Organique), 1833; Lehmann 的“生理化学教科書” (Lehrbuch der Physio-

logischen Chemie), 1842; Raspail 的“有机化学的新系統”(譯本), 1834。

1856—71 組織化学在动物組織方面与在植物組織方面者相反, 动物組織化学主要的还是生物化学, 其方法的大部分都帶有組織的破坏。在組織化学的这一方面, 开始出現了許多教科書, 其中有一些是翻譯早期的著作: Lehmann 的“Physiological Chemistry”, 1851 (翻譯); Robin 和 Verdeil 的“Traité de Chimie Anatomique”, 1853; Schlossberger 的“Chemie der Gewebe des gesammten Thierreichs”, 1856; Frey 的“Handbuch der Histologie und Histochemie des Menschen”, 1867。

1872—98 在这个阶段, 組織化学分成二部分, 一部分脫离了組織学, 合流于生理学; 另一部分仍为生物化学。在这个期間出版的論著有: Miescher 的“Ein Beitrag Zur Histochemie, 1874; Frey 的“Histology and Histochemistry of man”, 1874 (翻譯), Lehmann 的“Traité de chimie Physiologique”, 1883 (翻譯); Bunge 的“Lehrbuch der Physiologischen und Pathologischen chemie”, 1887。

1899—1929 在这个期間, 苯胺染料在組織学上的应用普遍推广开来。苯胺染料的应用是1862年 Bencke 最先記述的。二十世紀的头二十五年, 組織病理学有了迅速发展。組織学家們对新的染料和染料技术越来越感兴趣, 而对組織結構的化学显得越来越冷淡。尽管有許多新的顏色反应在診斷上已經具有重要意义, 但是还未曾企圖將它們放在物理学或化学的基础上。形态学的研究超过組織化学的研究, 而Mann(1902)曾經率地声言:“到1900年, 哺乳动物組織解剖学的研究已几乎完成”。这个时期在組織化学和組織生理学上共有二个贡献: 一个是 Mann 的“組織生理学”, 另一个是 Macallum 的“組織化学的方法和結果”(1908), 二者都是經典著作。將近这个时期末出版的, 標誌着組織化学新成就

的其它著作有: Parat 的“組織化学近代發展的評論”(1927); Patzelt 的“动物組織化学”(1928); Klein 的“組織化学實習”(1929); Hertwig 的“組織化学方法”(1929)。

1930—44 这是組織化学复兴和組織化学部分地回到組織学領域来的阶段。这个时期最重要的著作就是 Lison 的“动物組織化学”, 著者在这里宣布了沒有組織破坏的新組織化学。对于这本书在組織化学的發展和实际应用上所發生的影响的过高评价是不会錯的, 因为至今, 在这門科学許多分域中的权威都接受了他的看法。其它虽然不太重要但屬优秀的出版物有: Chamot 及 Mason 共著的“Handbook of Chemical Microscopy” 1930; Romeis 的“Histochemische Methoden”, 1932; Policard 及 Okkels 共著的“Die Mikroveraschung als histochemische Hilfsmethode”, 1932; Linderström-Lang 的“Problems in Histochemistry”, 1936。

1945—52 这个时期的主要出版物是 Glick 的“Techniques of Histo and Cyto-chemistry”, 1949。这本书簡要地涉及一些与組織学家們有关的組織化学理論和实际, 这里面从生理学、物理学和組織学的观点回顧了組織化学的全貌, 而且有許多技术方面的知識超过了一般水平; 所未被超越的仅是在狹小範圍內的某些專家們的特長。組織学的組織化学在后几年間已經大大發展起来, 提出了許多新方法, 其中有若干方法是还在沒有得到适当的解釋以前就普遍地应用了。

T. R. Baker 教授(1943, 1945)在一篇引人入胜而且頗有價值的專論中(在他所著的組織化学方法一書中提得更簡短一些), 提出了法国植物学家兼显微鏡学家 F. V. Raspail 是組織化学創立者的証据。他提出的理由, 我認为是沒有爭論余地的, 所以这本书的卷头刊载了 Raspail 氏的肖像。这是一張 Raspail 的青年时期的肖像, 在他創立了自己的卓越業績之后, 就投身于政治活动而放棄

了植物学和組織化学的研究。毫無疑問，組織化学作为一門科学有了明确的評價，是由于 Raspail 的貢獻 (1825 a 和 b, 1829)。Raspail 用公式表示了自己的四个原理 (Baker 氏引用的) 之后，就專心研究一种名叫 Graminacex 的花果受精过程。为了这个研究，他所用的最重要的反应，就是 1814 年 Colin 和 de Claubry 兩氏最初記述的，1826 年 Caventou 氏又在一个淀粉的显微鏡研究中用过的碘对淀粉的反应。Raspail 和 Caventou 兩位究竟是誰先在組織化学研究上使用了碘溶液，还不能肯定，但这一点也許不是重要的問題，因为 Caventou 以后未曾繼續其它任何有关組織化学的研究；但 Raspail 却發現並应用了許多直到今天还是很重要的其它組織化学反应。1820 年，他应用了測定蛋白質的蛋白黄色反应和測定醣的鹽酸(糠醛)試驗即一般所謂的 Lieberman 反应 (1887)，后一个反应目前已經不用在动物組織化学上。他应用硫酸作用于植物組織的實驗来示証蛋白質的存在，其实他所应用的就是用醛鑑定色氨酸的方法。此后，这个方法曾經過許多研究者修改过，就是目前仍用于組織化学中的 Voisenet-Fürth 反应。显微燒灰法現在一般都認為是 Raspail 所發現的 (1829，根据 Baker)。他也是利用指示剂染料測定原生質的 pH 的第一个人；他当时用的是从地中海地区出产的一种植物取得的藍色染料，这种染料在酸性溶液中变紅。

和 Raspail 的这些發現几乎同时代，还有許多其他植物学家們發表了大量純組織化学的反应。这里面可以提出的有 Mohl (1831) 关于碘反应的研究和 Schleiden 氏 (1838) 关于碘-硫酸反应的研究。但是，組織化学的發展是非常慢的，在 1860 以前除了植物学上的研究以外，甚至从最广泛的意义來說，能够称作組織化学的研究也是極有限的。在最老的一些方法之中，應該提到一些鉄的檢出法，这些方法多是由 Vogel 用黄色硫化鉍把組織中鉄变成黑色硫化鉄来檢出鉄的研究 (1845, 1847) 方法中衍生出来的。1867 年，Perls 介紹了借普魯士藍的生成来檢出鉄的方法，这个方法直到今天仍然是一种主要方法。繼 Perls 之后，Quinke 应用了 Vogel 的硫化物法，直到目前为止，这个方法实际上原样未动地还在使用

着。1844年, Millon 記述了自己檢出蛋白質所用的反应, 但 1853 年 Hoffmann 指出实际上这是一个測定酪氨酸的試驗; 虽然 Payen (1843) 早已用亞硝酸汞檢出过植物組織中的含氮物質, 但这个反应在 1888 年以前未曾用于組織化学 (1888年, Leitgeh 用过)。

1850年, Claude Bernard 完成了一个在 1859 年才發表的有名实验: 給狗注射乳酸鉄和亞鉄氰化鉀, 在酸的存在下, 結果不仅在胃腺中而且在胃黏膜表面上也可以發現其反应产物——普魯士藍。这种在体内进行的方法实在說是屬於生理学范围, 但是这一个特例也总算在組織化学范围之內。

在处理組織上应用酶的作用, 最初是 1861 年 Beale 报道的, 他用胃液从神經纖維中除掉不要的組織。这个方法本身其实是組織学的方法, 但到这一世紀的末期已發展成为一个独立技术, 即酶析法 (Kossel and Mathews, 1898)。

組織中酶的存在实验是从 Klebs (1868) 和 Struve (1872) 兩氏的研究开始的, 兩人都指出了瘰創木酚和膿作用生成藍色。这是第一次确定組織中有过氧化物酶存在的記錄; 現在誰都知道白血球中存在这些酶。Brandenberg (1900) 第一个用实验証明上述的过氧化物酶。細胞色素氧化酶是 Ehrlich (1885) 第一个發現的, 当然, 当时並不叫这个名字。他在体内完成了“納笛”反应 (“Nadi” reaction) (292頁), 做法是把 α -萘酚和对苯二胺注入动物体内, 在有“納笛氧化酶”存在的部位观察吲哚醌藍的生成。

除了上述若干方法以外, 在 1856—98 年这一期間, 还研究出来了許多其它組織化学方法。1868 年, Heidenhain 氏指出, 存在于分泌腺細胞底部叫做活动原形質的一种强嗜硷性物質中, 含有一种可被醋酸沉淀的东西。其实它就是現在叫做核糖核酸的物質。1870 年, 他發現腎上腺髓質的某些細胞用酪酸处理时呈显褐色。这种現象現在叫做染色反应。Lison 的意見認為这个反应本来是 Henle 氏在 1865 年發現的。在这个时期, 利用酶来处理組織的有 Miescher (1871), 他用胃蛋白酶从細胞漿物質中使核游离; Stirling (1875) 用胃液的消化作用分出了彈性纖維。这两个例子, 从現代的意义上来看, 已經难說它是組織化学的方法, 但是它們足

够說明，当时組織化学中許多研究是用破坏組織的方法。这就是 Lison 認為新組織化学無需破坏組織而把組織化学分为新旧兩段的原因。

1873 年, Miescher 利用核染色質对甲基綠的选择性亲和力, 分出了核染色質; 而 Ehrlich 在 1878—79 年注意在加热凝結时, 会引起血紅蛋白对硝基染料的亲和力增加。这个工作引起一个現代的问题, 即变性对于染料或組織化学試剂同組織蛋白中特殊基的結合究竟有什么影响。在这同一期間 (1856—98), 从 Bencke (1862) 把苯胺染料用于組織学上以后, 苯胺染料在一般組織学上有了广泛应用, 这是組織学实际工作的一个革命, 也是組織化学前进發展上的一个障碍。因为, 只顧使用各种染料集中全力来証明在組織学的意义上顏色和構造的相互关系, 而从未想把这些染料的行为和可被染色的組織成分的化学本質联系起来。尽管如此, 仍有几位研究家为了找出各种色素究竟如何結合組織的真相, 进行了相当大量的研究。物理学的染色理論是 Witt (1890—91) 提出的, 以后特别是 Fischer (1899) 又根据 吸 附 現象說明了所有染色过程, 从而得到了有力的支持。Miescher 和 Ehrlich, 还有 Knecht (1888) 都認為染色是一个化学过程。有趣味的是 Mann (1902) 在这些問題上的見解。他說: “染色的目的, 第一是为了决定形态学的因素, 第二是为了从微量化学上来確認我們已經从常量化学上發覺到的那些物質的存在和分佈。”他又說: “我們仅仅 能使用酸性或鹼性染料並測知組織的鹼性或酸性, 或者利用具有氧化性或还原性的染色基, 这是不够滿足的; 我們必須努力去探討那些既能指出某些元素例如鉄或磷等的存在, 又能指出某些有机絡合物如醣类、核蛋白产物、魚精蛋白及其它等的存在的顏色反应。”这些話至少証明 Mann 知道这个問題, 但是, 組織学家們一般却很少实际去解决这些問題。

使用苯胺染料的許多反应中, 有若干实际上都是組織化学反应, 但是这些反应的意义常常未能得到应有的評價, 甚至是錯誤地評價。在大多情形下, 这种意义現在仍然还未完全被人理解。例如, Cornil (1875) 最初所記述的, 因甲基紫淀粉狀蛋白的被染为

異染性染色，就屬於這種情形。Ehrlich 顯示肥大細胞的反應系用含有8%醋酸的天竺牡丹花(天利花)飽和酒精溶液，這實質上同現代用硫氮苯染料的方法類似，也可以看做是組織化學反應。其它，机理还不够清楚的一些反應：如 Weigert (1884)和 Marchi (1892)的髓鞘法及 Gram (1884)的苯胺紫法，也屬於這一類型。Mathews (1898)關於清蛋白及蛋白酶的實驗工作和 Saint-Hilaire (1898)所領導的在核組蛋白方面的一些重要研究都有力地支持了化學染色理論。Saint-Hilaire 在研究一個檢定組織中尿酸的方法時，注意到核偶爾也可被染色。他斷定這是因為核中有組蛋白存在才有這個反應。Saint-Hilaire 還指出，組織中被醋酸沉淀的核組蛋白受稀鹽酸溶液的作用可以分離出來，組蛋白留在原位不動。這個題目的各種變法，目前應用很廣。

在我們所討論的這個時期中，尤其在後半期，關於原生質的本性進行了大量研究，其中特別是 Stöhr (1882)的研究值得注意，他根據自己關於凝結過程的研究結果，斷定在胃壁膜細胞中有某種蛋白物質存在。Flemming (1882)、Koscel (1882, 1886)、Altmann (1886, 1889)、Schwarz (1887)和 Mann (1882)等在這方面也進行了大量研究。Flemming (1876)在這以前早已記述過一種將原纖維聯在一起的粘合質，由原纖維可組成松結締組織的纖維束。他認為粘合質是具有粘蛋白性質的物質。Altmann 在 1889 年創立了用凍干固定的方法，這個方法後來在 Gersh 及其他繼承者們的手中，成為現在組織化學的重要工具。其他研究家們繼續研究了染色過程的化學本性，這些研究中有許多現在也在應用。其中具有重要價值的是 Griesbach (1886)的研究，他認為組織的染料化合物必須具有與游離基不同的性質；Unna (1887)曾試証過這一點。還有 Lileinfeld (1893)研究過粘蛋白的染色。Hoyer (1890)用硫氮苯染料在粘液唾腺細胞中証實了異染性。由於他的發現，顯示粘蛋白的異染方法已經大為普遍。在 Hoyer 發表他的論文以前，粘蛋白都是利用根據粘蛋白的強嗜鹼性質的方法來染色的。List (1885)第一個利用俾士麥褐來染粘蛋白，而 Hardy 和 Wesbrook (1895)用這種染料的酒精溶液來染水溶性的粘蛋白類和粘多醣

类。在同一年，Heine (1895) 对于染色質的性質做了若干重要的觀察。他注意到染色質的一些个别部分可强烈地被米倫氏試剂染色，遂想起用甲基綠和品紅 S 的混合溶液染色来区别核蛋白和核酸，当然未得成功。同在 1895 年，Macallum 証实核經硫酸处理以后，即获得用檢出組織中鉄的常法而被染色的性質。从此以后，关于这个鉄究竟是真正存在于核內还是由外部吸附来的問題，曾經过長時間的討論。

十九世紀后几年里应用的酶析法，在 Mall (1891) 的工作中有記載。他研究了胶原在各种溶液中的膨潤过程和粗制胃蛋白酶及胰蛋白酶对膨潤的作用。在这个时期，关于酶析作用的概念还毫未接近于現代的程度。1896 年 Daddi 首次用苏丹 III 在体外进行脂肪染色，接着就讓动物嚥下，然后借它的紅色在組織中观察到了这种脂肪。1901 年，Michaelis 提議用苏丹 IV 作脂肪染色，並且指出，脂肪用苏丹染料染色具有純物理学的性質，要靠这个非活性染料溶解于脂肪本身。

鑑定組織中一些無机鹽的許多方法中，應該提到 Molisch (1893) 的組織鉄染色法，这个方法是把鉄变成紅色的硫氰酸鹽；还有 Lileinfeld 和 Monti (1892) 發展的一个証实磷酸鹽存在的鉬酸鉍法，这个方法經 Pollacci (1900) 修正过，以后在二十世紀里又由其他一些研究家加以修改。为了証实組織中鈣的存在，应用 Von Kóssa 在 1901 年記述的方法，这个方法目前仍在应用。

上述关于組織化学历史的簡短說明，也許未能給予讀者一个有关組織化学具体而有系統的概貌，部分原因是由于缺乏系統性的材料。虽然如此，我希望我已經能够表明出来：为 Raspail 所奠基的組織化学，以及这位偉大学者所敘述的原理，是从 1820 年到本世紀为止一直未有大的間断而繼續下来的。在十九世紀將近末期的时候，大多数組織化学家都在忙于收集由染色技术的新發展所帶來的丰富結果，而从事于組織化学的不多。因此，組織化学多半处于停滯不前的状态，組織化学仅借几个从業人員的工作来保存生命，直到廿世紀第 30 年代才得复兴。由于 Lison 的大作“动物的組織化学”的出現，使組織化学作为組織学的一个独立分支在現

代的基础上确立起来。从那时以来到今天，組織化学有了迅速发展 and 进步，在第廿世紀的后半期里，大多数組織学家至少希望在他们所处理的組織中力求能够用微量化学的方法来确定某些物質。

文 献

- ALTMANN, R. (1886). "Studien über die Zelle." Leipzig.
ALTMANN, R. (1889). *Arch. Anat. Physiol. Lpz. Physiol. Abt.*, p. 524.
BAKER, J. R. (1943). *J. Quekett micr. Cl.*, 4 ser., 1, 256.
BAKER, J. R. (1945). "Cytological Technique." 2nd Ed. Methuen, London.
BEALE, L. S. (1861). *Arch. Med. Lond.*, 2, 179.
BENCKE, A. (1862). *Korrespl. Ver. Gemeinsch. Arbeiten*, 59, 980.
BERNARD, C. (1859). "Leçons sur les Propriétés Physiologiques et les Altérations Pathologiques des Liquides de l'Organisme." Vol. 2. Paris.
BRANDENBURG, K. (1900). *Münch. med. Wschr.*, 47, 183.
BUNGE, G. (1887). "Lehrbuch der physiologischen und pathologischen Chemie." F. C. W. Vogel, Leipzig.
CAVENTOU, J. B. (1826). *Ann. Chim. Phys.*, 31, 337.
CHAMOT, E. M., and MASON, C. W. (1930). "Handbook of Chemical Microscopy." New York.
COLIN, J. J., and DE CLAUBRY, H. G. (1814). *Ann. Chim.*, 90, 87.
CORNIL, V. (1875). *C. R. Acad. Sci., Paris*, 80, 1288.
DADDI, L. (1896). *Arch. ital. Biol.*, 26, 143.
EHRlich, P. (1878-79). *Verh. physiol. Ges. Berlin*, 20.
EHRlich, P. (1885). "Das Sauerstoff-Bedürfniss des Organismus." Berlin.
FISCHER, A. (1899). "Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas." Leipzig.
FLEMMING, W. (1876). *Arch. mikr. Anat.*, 12, 434.
FLEMMING, W. (1882). "Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung." Leipzig.
FREY, H. (1867). "Handbuch der Histologie und Histochemie des Menschen." Leipzig.
FREY, H. (1874). "Histology and Histochemistry of Man." Trans. Baker, A. F. J. London.
GLICK, D. (1949). "Techniques of Histo- and Cyto-chemistry." Interscience, New York.
GRAM, C. (1884). *Fortschr. med.*, 2, 185.
GRIESBACH, H. (1886). *Z. wiss. Mikr.*, 3, 358.
HARDY, W. B., and WESBROOK, F. F. (1895). *J. Physiol.*, 18, 490.
HEIDENHAIN, R. (1868). *Stud. physiol. Inst., Breslau*, 4, 88.
HEIDENHAIN, R. (1870). *Arch. mikr. Anat.*, 6, 368.
HEINE, L. (1895-96). *Hoppe-Seyl. Z.*, 21, 494.
HERTWIG, G. (1929). "Histochemische Methoden." In von Möllendorff's "Handbuch der mikroskopische Anatomie des Menschen." Berlin.
HOFFMANN, R. (1853). *Ann. Chem. Pharm.*, 37, 123.
HOYER, H. (1890). *Arch. mikr. Anat.*, 36, 310.
KLEBS, E. (1868). *Z. med. Wiss.*, 6, 417.
KLEIN, G. (1929). "Practicum der Histochemie." Berlin.
KNECHT, E. (1888). *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 21, 1556.
KÓSSA, J. VON (1901). *Beitr. path. Anat.*, 29, 163.
KOSSEL, A. (1882). *Hoppe-Seyl. Z.*, 7, 7.
KOSSEL, A. (1886). *Ibid.*, 10, 248.
KOSSEL, A., and MATHEWS, A. (1898). *Ibid.*, 25, 190.
LEHMANN, C. G. (1842). "Lehrbuch der physiologischen Chemie." Leipzig.
LEHMANN, C. G. (1851). "Physiological Chemistry." Trans. Day, G. E. London.
LEHMANN, C. G. (1883). "Traité de Chimie Physiologique." Paris.

- LEITGE, H. (1888). *Mitt. bot. Inst., Graz*, p. 113.
- LIEBERMANN, L. (1887). *Zbl. med. Wiss.*, 25, 321.
- LILIENFELD, L. (1893). *Arch. Anat. Physiol., Ipz.* Physiol. Abt. p. 554.
- LILIENFELD, L., and MONTI, A. (1892). *Z. wiss. Mikr.*, 9, 332.
- LINDERSTRÖM-LANG, K. (1936). *Arch. exp. Zellforsch.*, 19, 231.
- LISON, L. (1936). "Histochimie Animale." Gautier Villars, Paris.
- LIST, J. H. (1885). *Z. wiss. Mikr.*, 2, 145.
- MACALLUM, A. B. (1895). *Quart. J. Micr. Sci.*, 38, 175.
- MACALLUM, A. B. (1908). *Ergebn. Physiol.*, 7, 552.
- MALL, F. (1891). *Abh. sächs. Ges. (Akad.) Wiss. Math.-phys.*, 17, 299.
- MANN, G. (1890). *Trans. bot. Soc., Edinb.*, 18, 429.
- MANN, G. (1902). "Physiological Histology." London.
- MARCHI, V. (1892). *Arch. ital. Biol.*, 17, 191.
- MATHEWS, A. (1898). *Amer. J. Physiol.*, 1, 445.
- MICHAELIS, L. (1901). *Virchows Arch.*, 164, 263.
- MIESCHER, F. (1874). *Verh. naturf. Ges. Basel*, 6, 138.
- MIESCHER, F. (1871). *Hoppe-Seyl. med.-chem. Untersuch.*, p. 441.
- MIESCHER, F. (1873). *Verh. naturf. Ges., Basel*, 6, 138.
- MILLON, A. N. E. (1844). *C. R. Acad. Sci., Paris*, 18, 1041.
- MOHL, H. (1831). *Flora*, 15, 417.
- MOLISCH, H. (1893). *Ber. deutsch. bot. Ges.*, 11, 73.
- PARAT, M. (1927). *Biol. Rev.*, 2, 285.
- PATZELT, V. (1928). In "Fortsschritte der Mikrochemie." Ed. Klein, G., and Strebing, R. Vienna.
- PAYEN, A. (1843). *Mem. Acad. Sci., Paris*, p. 163.
- PEARSE, A. G. E. (1951). *J. clin. Path.*, 4, 1.
- PERLS, M. (1867). *Virchows Arch.*, 39, 42.
- POLICARD, A., and OKKELS, H. (1932). "Die Mikroveraschung als histochemische Hilfsmethode." In Abderhalden's "Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden." Berlin.
- POLLACCI, G. (1900). *Att. Ist. bot. Univ. Pavia*, 2 ser., 6, 15.
- QUINKE, H. I. (1868). Referred to in *Arch. exp. Path. Pharmacol., Leipzig*, 37, 183, 1895-96.
- RASPAIL, F. V. (1825a). *Ann. Sci. nat.*, 6, 224.
- RASPAIL, F. V. (1825b). *Ibid.*, 6, 384.
- RASPAIL, F. V. (1829). *Ann. Sci. Observation*, 1, 72.
- RASPAIL, F. V. (1830). "Essai de Chimie Microscopique Appliquée à la Physiologie." Paris.
- RASPAIL, F. V. (1833). "Nouveau Système de Chimie Organique." Paris.
- RASPAIL, F. V. (1834). "A New System of Organic Chemistry." Trans. Henderson, W. London.
- ROBIN, C., and VERDEIL, F. (1853). "Traité de Chimie Anatomique." J. B. Baillière, Paris.
- ROMEIS, B. (1932). "Histochemische Methoden." In Boehm and Oppel's "Teschenbuch der mikroskopischen Technik." Munich.
- SAINT-HILAIRE, C. (1898). *Hoppe-Seyl. Z.*, 26, 102.
- SCHLEIDEN, M. J. (1838). *Ann. phys. Chem.*, 43, 391.
- SCHLOSSBERGER, J. E. (1856). "Die Chemie der Gewebe des gesammten Thierreichs." Leipzig.
- SCHWARZ, F. (1887). *Beitr. Biol. Pfl.*, 5, 1.
- STIRLING, W. (1875). *J. Anat. Physiol., Leipzig*, 10, 185.
- STÖHR, P. (1882). *Arch. mikr. Anat.*, 20, 221.
- STRUVE, H. (1872). *Liebigs Ann. chem. Pharm.*, 163, 160.
- UNNA, P. G. (1887). *Arch. mikr. Anat.*, 30, 39.
- VOGEL, J. (1845). "Pathologische Anatomie des menschlichen Körpers." Leipzig.
- VOGEL, J. (1847). "Pathological Anatomy of the Human Body." Trans. Day, G. E. London, p. 346.
- WEIGERT, C. (1884). *Fortschr. Med.*, 2, 190.
- WITT, O. N. (1890-91). "Färbezeitung." Quoted by Mann, G., 1902.

第二章 固定化学

各种固定液的形态效用，在一般組織技术書中已有适当的描述，而在 J. R. Baker 教授所著的細胞技术書（第三版，Oxford, 1950）中，講的尤为詳尽，故不在这里再談。本章將分为兩部分。在头一部分里，將講述用甲醛及其他固定剂的固定化学以及其对組織化学反应进行及解釋的影响。在第二部分里，將对各种現代組織化学技术中固定剂的选择加以評述。为組織化学研究，用冻干方法所进行的組織制备，常常但錯誤地認為是一种固定，这将在下一章中講述。

暫時取相反的次序來講一下。現時有这样的傾向，即对于所有組織化学工作，認為用冻干方法为必須条件。这种見解，特別受到物理化学家的热烈支持。当用物理学的方法时，这虽然是正确的，但对于大多数組織化学方法，这是不确实的。这是由于冻干方法很繁瑣，不能用于日常工作，而且由于常須用固定状态的材料和这种方法用于細胞学的范围較之用于組織学范围更为恰当。大多数的組織化学研究，必須借标准方法固定的材料来进行。对于每一个具体的組織化学方法來說，用最适宜的固定方法是極為重要的；但如果标准固定液仍繼續用作組織化学研究的初步处理时，那就必須确切知道它們对于各种組織成份反应基的效用。这些成份中最重要的是蛋白質，因为最好的蛋白固定剂是甲醛，所以下面將詳細講述甲醛的作用。只有在用甲醛極不适当的时候，才用其他的固定剂来代替。为了組織化学的目的，仅乙醇及丙酮較重要；金屬鹽虽偶然是必需的，但很少用。

固定剂对組織成份的化学作用

甲醛

甲醛与組織蛋白的反应多且复杂，这是因为甲醛能与許多不