

组织胚胎学实习指导

组织胚胎学教研室

一九八七年五月

一、实习目的

组织胚胎学实习课，是组织胚胎学的重要组成部分，实习目的在于，通过对各种实物标本和模型观察，以验证和巩固课堂讲授的理论，加深对所学内容的理解，并培养分析、综合的思维方法，以及独立工作的能力。

二、实习的规则和要求

本学科的实习课，是以学生自学为主要方式，同学自行操作、观察，教员只是在实习方法和某些具体内容上予以必要的指导。为了使同学们在有限的实习时间内能顺利完成所规定的任务，必须注意以下几点要求：

- 1、遵照本实验室墙上所贴名单的坐号和显微镜号入座和取镜。
- 2、课前要预习实习内容，实习时，按实习指导的操作程序进行，不做任何与实习无关的活动。
- 3、按时上、下课，不迟到、不早退、不会客，提早完成任务的同学，可以复习本学科的其他内容。
- 4、保持肃静，不谈笑喧哗，不随意走动，有疑问时，可与邻近同学研究，或请教师解答，但必须轻声。
- 5、爱护室内公物，不要擅自拆卸显微镜的任何部件，所用的切片标本和显微镜系供专人使用，专人负责每次使用之前必须认真检查，发现问题及时报告，并作必要的登记手续，以便及时补充或修理。
- 6、未经教师许可不得随意移动示教镜及示教标本。
- 7、不得在室内吸烟，不随地吐痰，不乱抛纸屑、笔屑，实习完

毕。值日生要打扫卫生，离开实验室时，要将门、窗、水、电关好。

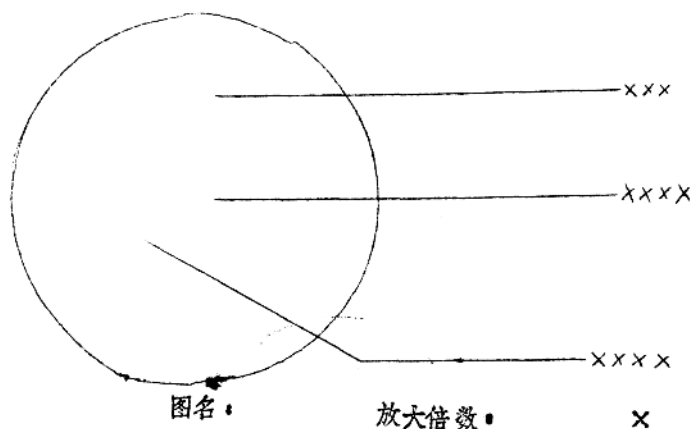
三、绘图要求

1、组织学的绘图，是为了加强记忆和理解，既能表明组织结构上的特征又具有真实性。因此，必须在低倍或高倍镜全面观察之后再选择典型部位，按镜下所见的绘图，切忌临摹图谱，力争做到既正确又整齐美观。

2、绘图之前首先在图纸上粗略估计画面大小，也可以用园规画一园圈代表视野，然后在这个范围内，用笔轻轻构画草图。

3、在草图基础上，根据不同颜色的深浅分别用色笔着色，一般的H标本，可用红或桃红色表示胞质或嗜酸性结构；用兰色或紫兰色画胞核和嗜碱性结构。

1、图注一律用铅笔，每条引线要直，平行排列于图的右侧，注字要端正，图的下面要写图名及放大倍数。



四. 立体的器官组织与平面的切片图象关系

在镜下看到的切片标本图象，是制片过程中把完整的立体的器官切散而成的小片。所以是一种平面的局部的组织图象。必须通过分析综合，才能把这些切散的平面图象联系起来，建立完整的立体的器官组织概念。体内各器官组织的形态结构各不相同，有空心的管状、囊状，也有实心的，就是同一器官组织由于切散的方向或部位不同，也可以有不同表现。举例如下，

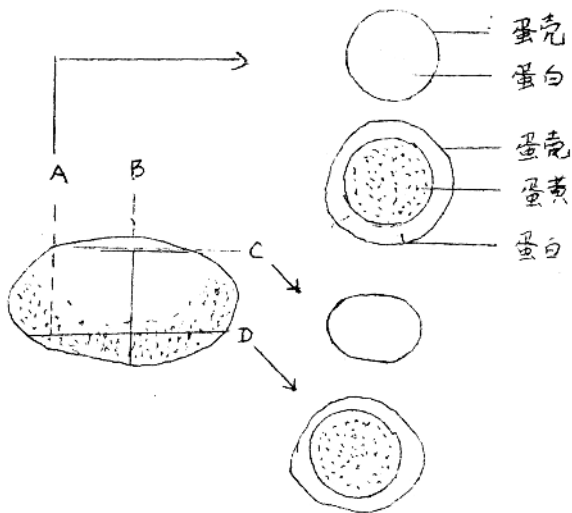


图1. 鸡蛋的不同切面图解

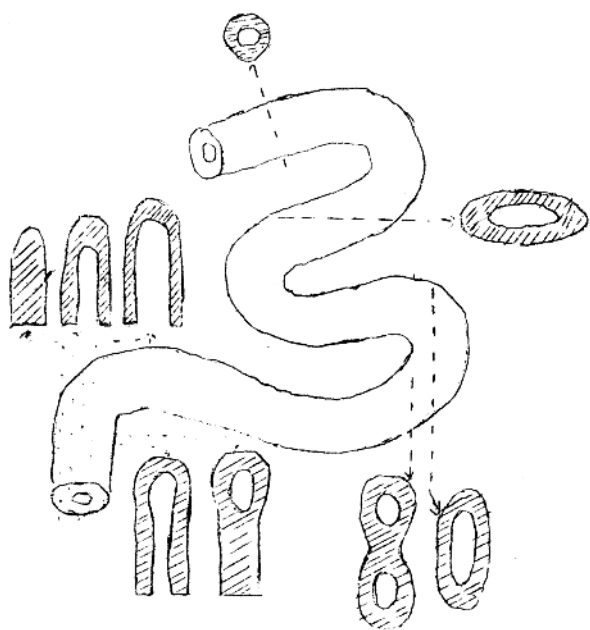


图2 管道器官的不同切面图解

绪 论

一、显微镜的构造和使用

实习目的：显微镜是本学科主要的学习工具，要求同学在上过生物学的基础上更熟练，正确地使用。

实验内容：

(一)显微镜的构造

1、机械部分

- (1)镜座——位于镜之最下部，通常为马蹄形，用以支持镜体。
- (2)镜臂——呈弓形，以倾斜关节与镜座相连。根据观察者的需要可使镜身适当向后倾斜。
- (3)载物台——为放置标本的方形或圆形板，台之中央有圆孔。使光线得以通过。台上装有固定载物玻片的弹簧夹与可以前后左右移动的推片器。
- (4)镜筒——为直立的空心圆筒，上端装有目镜，下端装有旋转盘。
- (5)粗、细调节器——装置于镜之两侧，上下扭动，可使镜筒或载物台升降。粗调节器旋转一周，约可使镜筒升降10毫米距离，细调节器旋转一周，可使镜筒升降0.1毫米。
- (6)旋转盘——位于镜筒下端。其上有圆孔三或四个，装有不同倍数的物镜。
- (7)集光器螺旋——位于载物台下，能调节集光器的升降。

2、光学部分

- (1)物镜——装于旋转盘之圆孔内，物镜可分低倍物镜，高倍物

镜和油镜三种，低倍物镜通常为 $5\times$ （或 $10\times$ ），高位物镜为 $45\times$ （或 $40\times$ ），油浸物镜为 $100\times$ （或 $90\times$ ）

- (2) 目镜——装于镜筒上端与观察者之眼接近故名目镜。因扩大倍数不同而注有各种号码（如 $5\times$ 、 $10\times$ 、 $5.5\times$ ，等）为便于指示物象，目镜中常装有用黑发所做的细丝一根，是谓测针。
- (3) 集光器——装置于载物台下。扭动集光器螺旋，可使其上下移动，借以调节视野内的照明强度。
- (4) 反光镜——装于镜之最下方，有平凹两面，可根据需要而自由翻转。
- (5) 虹彩光圈——位于集光器之下，侧方有小柄，左右转动，能调节光线的强弱。

(二) 显微镜的使用

1、搬显微镜时，用右手握镜臂，左手帮助托住镜座，以保持镜身平直于胸前。

2、使用时，有的根据需要，使镜臂微微向后倾斜，但角度不宜过大，以免显微镜失去重心而下倒。

3、对光时，转动物镜旋转盘，使低倍接物镜正对载物台上的圆孔，升高集光器使其几乎贴近载物台。然后以左眼对准目镜，拨反光镜朝向光源。直至视野最亮为止。

反光镜的用法

(甲) 平行光源(如阳光)。原则上用反光镜之平面部分，但若因映入外界景物(如窗格、树影等)妨碍观察时，可改用凹面镜。

(乙) 点状光源(如电灯光)原则上用凹面部分，因凹面镜能将散开的光线聚集，增加亮度，除日光灯外，一般电灯下看镜时，应于集

光器插入兰色滤光片，吸收黄色光线部分。

4、置标本于载物台上。注意，标本上的盖玻片一定要向上，以弹簧夹，固定标本片。将欲观察组织移置园孔正中央，然后用左眼自接目镜进行观察，另一眼必须同时张开，这样可防止疲劳。

5、一般低倍镜视野广而清晰，利于全面观察和找寻组织，器官。观察时，初学者为谨慎起见，宜先将镜头尽量下降，同时应将头偏向一侧，注视接物镜下降，直至物镜与载物玻片相距约0.5厘米为止。然后，对目镜，扭转粗调节器，使镜筒逐渐上升，待看到模糊的物象后，换用细调节器调节，使物象清晰。

6、欲观察标本的微细结构时，可换用高倍物镜观察，先在低倍镜下找到目的物移至视野中心，让镜筒稍上升，然后转动旋转盘，使高倍镜正对载物台上的园孔，继而旋动调节器，使物象清晰。其调焦步骤同5，只因高倍物镜与玻片的距离较短，几乎相接触，调焦时应格外小心防止压破玻片。

组织学标本一般于高倍镜已可辨认。如必须应用油浸物镜观察标本时，须先将高倍物镜找到的目的物移至视野中心，然后，提高镜筒，在载玻片上滴加香柏油(cedar wood oil)转动旋转盘，使油浸物镜正对载物台上的园孔。继而使镜筒徐徐下降，使油浸镜头与标本上的油液相接触。轻轻旋转细调节器，以使物象清晰止。

看显微镜时双目应完全睁开，逐步养成用左眼看显微镜，右眼作图的基本功。

(三)显微镜的保护

1、应用油浸镜后，用拭镜纸浸以少量二甲苯(半滴已够)擦去镜头与标本上的香柏油，并立即换干燥拭镜纸，继续擦之。

2. 镜之光学部分，暴晒于强光之下极易损坏，故应随时注意避免。

3. 显微镜使用后，取下标本，转动旋转盘，使物镜呈八字形，下降镜筒，移动推片器至适当部位，妥善地将镜放入镜盒，并锁好。

4. 不论接目镜或接物镜，若有灰尘，禁用口吹，手抹，应用拭镜纸拭净。

5. 勿用暴力旋转粗、细调节器，并保持该部齿轮之清洁。

二、切片标本的制作过程

实验目的，了解切片标本制作过程，同时也借以使同学体会到制片之不易，以期在今后的实验中能更自觉地爱护标本。

内容：以石蜡包埋，苏木精伊红(H.E)染色为基础，介绍制片的一般过程。

制片步骤：

(1) 取材，材料必须新鲜，一般不应超出物死后4—6小时。若死后过久，则因细菌作用及细胞自溶，使组织发生变化，所取材料体积一般应小于0.5立方厘米。

(2) 固定，材料取好后，应立即投入固定剂中，常用的固定剂为Bouin液，Zenker液及10%福尔马林，固定数小时至1天。

(3) 水洗，流水冲洗12小时，以除去固定剂。

(4) 脱水，经过70%、80%、95%、100%各级酒精各6—12小时。

(5) 浸蜡，从纯酒精取出后放入二甲苯中半小时，二甲苯石蜡混合剂半小时，纯石蜡1小时，使蜡浸入组织中。

(6) 包埋: 组织从溶腊中取出, 放在包埋框中, 注入石腊, 使组织凝固于其中。

(7) 切片: 将含有组织的腊块, 用切片机切成厚度约5—8微米之薄片。

(8) 粘片: 将切片在温水中展平, 贴在涂有蛋白甘油的载玻片上, 置放温箱中烤干。

(9) 染色: 将切片顺序放入。

A、二甲苯中10分钟脱去石腊。

B、100% 酒精→90% →80% →70% →60% →50%
→水各5分钟。

C、入苏木精液5—10分, 使细胞核染成紫兰色。

D、入酸酒精分色数秒, 以脱掉多余的染色剂, 使细胞质上的颜色消失。

E、流水洗一小时除去余酸。

F、入70% →80% →90% 酒精各10分钟。

G、入伊红液染细胞质1分钟。

H、入90% 酒精分色, 至无红色自组织脱下为止。

I、入100% 酒精, 二甲苯各半小时。

J、封藏: 从二甲苯取出后, 滴以加拿大树胶, 然后复以盖玻片, 则成为一永久性标本。

染色结果: 核紫兰色, 细胞核粉红色, 细胞间质粉红至红色。

思考题

1、显微镜操作时, 导致破片的原因是什么? 如何防止?

2. 低倍镜看不到物相时应考虑哪几方面因素？转高倍时看不到目的物又是为什么？

细 胞

一、细胞的基本结构

标本编号19

取材：脊神经节

染色 H. E

目的：看懂细胞外形、细胞核、细胞质、核仁等结构。

观察：

低倍：在脊神经节中可以找到大量圆形或不规则形的神经细胞、细胞群集、大小不等，小细胞染色较淡。选择细胞较多结构清晰的区域（多数细胞中央有个小红点的核仁）置于视野中，然后转换高倍。

高倍：识别细胞外形，细胞中含一个圆形核，核内有个红色小圆形的核仁，核内的其他小颗粒为染色质。

请想想，为什么有的细胞看不到核或核仁？

二、高尔基复合体（内网器）

标本编号2

取材：脊神经节

染色：镀银

目的：观察高尔基体的形态与分布

观察：

低倍：在淡黄色背景中找出群集的神经细胞，神经细胞的中央有个圆形空白点为细胞核的位置。选择细胞结构清晰的区域置于视野中，然后用高倍镜观察。

高倍：神经细胞中央呈圆形不着色的为细胞核，细粒状或扭曲成丝网状的高尔基复合体染成黑色或深褐色，并围绕着核的四周。

三、线粒体

标本编号1

取材：肝

染色：苏木精

目的：观察线粒体的形态和分布。

观察：高位镜下可见肝细胞呈多边形，细胞中央有个圆形细胞核，核内有个染成黑色的核仁，胞质中含有许多散在的兰黑色细颗粒为线粒体。

思 考 题

光镜下，可以看到哪些细胞器？是否在HE标本上都能看到？

上 皮 组 织

上皮组织的细胞排列紧密，或为单层或为复层，因为动物细胞膜很薄不易在一般光镜下看清楚。因此观察细胞形态时，要靠核的形态和位置来间接推断细胞形态。

一、单层扁平上皮

标本编号4

取材：肠系膜铺片

染色：镀银法

目的：观察单层扁平上皮表面观的细胞轮廓。

观察：

低倍：整装标本往往各处厚薄不同，染色深浅不一，应选择标本最薄外（染成淡黄色）再用高倍镜观察。

高倍：上皮细胞表面观呈多边形，细胞界限呈明显的黑色波纹状线条，有的细胞隐约可见一个圆或卵圆形的细胞核。

二、单层扁平上皮

标本编号

取材：胃幽门

染色：HE

目的：观察外膜了解单层扁平上皮的侧面观

观察：

低倍：长条形管壁组织的内、外两面着色不一，染色较红，表面平整的一边为外膜面，（另一面为粘膜面，凹凸不平，偏兰紫色），其表面有单层扁平上皮的覆盖。

高倍：沿着平整的外膜表面可找到清楚单层扁平上皮侧面观，该上皮细胞很扁，核呈杆状，染深的兰紫色，沿着外膜面分布，核距不等，核的周围有少量染成粉红色的细胞质，胞界不清。

三、单层立方上皮

标本编号5

取材：甲状腺

染色：H. E

观察：镜下可见由细胞围成的许多大小不等的空腔，腔壁即单层立方上皮，核圆形，位于细胞中央。

四、单层柱状上皮

标本编号6

取材：胆囊

染色：H. E

观察：

低倍：长条形标本的上、下两面分别为胆囊的外膜面和粘膜面。粘膜面可见许多高、低不一的皱襞，凹凸不平。其上可以看到单层柱状上皮。选择细胞核成单行整齐排列的部位，置高倍观察。

高倍：细胞呈高柱状，排列紧密，核为长椭圆形，整齐地列于细胞基部。

五、假复层柱状纤毛上皮

标本编号7

取材：气管

染色：H. E

观察：

低倍：在管腔内表面的一层细胞核密集而着色较深的上皮就

是假复层柱状上皮。介于上皮和深部组织之间有一粉红色薄层为基膜。

高倍：上皮细胞胞界不清楚，细胞核似排列成数层，但仍为一层细胞，只是因为细胞高矮不同所致。柱状细胞核位于最浅层，细胞表面有一排纤细、整齐的纤毛，柱状细胞之间夹有杯状细胞，胞质染色淡，靠深部较密集的细胞核是梭形或三角形细胞，杯状细胞的胞核。基膜位于上皮深面呈红色均质状的一层，其中不含细胞核。

六、复盖扁平上皮

标本编号：24

取材：食管

染色：H E

观察：

肉眼：可见食管的管腔不规则，腔面有一着色较深的带状结构，即复层扁平上皮。

低倍：观察上皮部分，可见这种上皮是由多层细胞组成，各层细胞形态不一，上皮基部凹凸不平，下方的结缔组织呈乳头状向上皮突出。

高倍：由深层向腔面观察各层细胞的形态。基底层的细胞为矮柱状或立方形，约1—2排。中层细胞呈多边形，此层细胞向表面逐渐变成梭形细胞。最表层细胞为扁平状，有数层。

七、移行上皮

标本编号8

取材：膀胱

染色：H. E

目的：识别移行上皮的形态特点；比较不同功能状态下的上皮细胞形态和层次。

观察：

肉眼：同一载玻片上，有宽、窄不同的2条切片，宽者为收缩状态，窄的为扩张状态的膀胱壁。前者有一边的表面凹凸不平是为

粘膜面。其表面有移行上皮的复盖。

低倍：先观察收缩状态，收缩状态的粘膜有**许多皱襞**，故凹凸水平，但是上皮的游离面和基底面却相应平行，**不象复层扁平上皮那样**。基底面凹凸不平，其底层和中间层的上皮细胞与复层扁平上皮相似，而表层细胞形态不一，多数呈倒置的梨形，也有长方形，胞体比较大。有时还可以看到一个细胞内有2个核。扩张状态的上皮明显变薄，细胞层次减少，最薄的地方，表层的上皮细胞变扁。

固有结缔组织

一、疏松结缔组织

标本编号10

取材：结缔组织撕片

染色：活体注射+特殊染色

目的：识别胶原纤维、弹性纤维、成纤维细胞，组织细胞和肥大细胞。

观察：

低倍：选择标本最薄处，可以看到交错的纤维和深染的细胞。

高倍：胶原纤维染成粉红色，较为粗大，粗细不等，并有分枝；弹性纤维如细线状，染成紫色，也有分枝；组织细胞形态不一，常有不规则突出。其胞质内含有大量粗大的吞噬颗粒，颗粒深兰色，大小不等，分布不均，细胞中央的卵圆形透亮区为胞核的部位；肥大细胞轮廓清楚，呈圆形或卵圆形，胞质中充满了紫色颗粒，核小，圆形。

成纤维细胞，有不规则突起，细胞轮廓不很明显，多数细胞只能看到一个卵圆形核。核较大。染色淡。

浆细胞，圆形或椭圆形，胞质染成紫红色，核偏一侧，呈车轮

状，近核的一侧常见及一个淡染区。)

试问，本片所见的组织细胞和肥大细胞中的颗粒性质有何不同。

二、疏松结缔组织 标本编号：3

取材：膀胱 染色：H、E

目的：识别疏松结缔组织的切片状态。

观察：

低倍：在膀胱组织中，疏松结缔组织染成粉红色，充填于染成深红色的平滑肌纤维束之间。

高倍：纤维走向不一、排列疏松，纤维之间有染成兰紫色的椭圆形细胞核分布，多属成纤维细胞的核。H、E染色标本难于区分各种不同的纤维和细胞。

三、致密结缔组织 标本编号：7

取材：肌腱纵切 染色：H、E

观察：胶原纤维密集成束，腱细胞排列成行，夹在纤维束之间。

四、网状纤维 标本编号：6

取材：淋巴结 染色：镀银法

观察：镜下所见那些黑色纤维网大都是网状纤维，在网眼内散布着许多黑色的细胞核是网状细胞及淋巴细胞核，细胞的形态在这张镀银染色切片中不易分辨。

软骨、骨和血液

一、透明软骨 标本编号：38

取材：气管 染色：H、E

观察:

肉眼: 在气管壁中染成深兰色半环状的结构即透明软骨。

低倍: 依次从软骨周围向中央观察, 包在软骨周围的是软骨膜, 由致密结缔组织构成。染成浅红色, 软骨组织呈浅兰紫色, 软骨细胞藏于由基质围成的陷窝中。生活状态时陷窝被软骨细胞所充满。制片中因细胞收缩而出现空隙, 包围软骨陷窝的基质称为软骨囊。呈强嗜碱性而着深兰色。

软骨细胞的形状和排列与软骨的发育有关。愈近软骨膜的细胞愈年轻, 细胞小而扁, 与软骨膜平行排列。愈近中央的细胞愈年老, 胞体逐渐增大, 变为圆形或椭圆形, 常二、四成群, 包在同一陷窝中。

二、骨组织

标本编号: 13

取材: 干骨磨片

观察: 镜下所见是骨密质, 环层同心圆结构为哈氏系统, 位于中央的圆形腔为哈氏管, 围绕哈氏管层层排列的骨板为哈氏骨板, 骨板间可见许多小黑点即骨陷窝, 陷窝向四周发出许多细小的放射状突起即骨小管。相邻陷窝的骨小管彼此相通。生活时骨细胞藏于骨陷窝内, 骨细胞的突出伸向骨小管中。

三、血液

标本编号: 14

取材: 人血涂片

染色: Wright 氏法

目的: 识别各种血细胞和血小板

观察:

低倍: 选择涂片较薄又有白血细胞的地方, 换高倍观察。

高倍: 分辨红细胞、各种白血细胞及血小板。

1、红细胞: 数量最多, 扁圆形, 无核, 细胞内由于含有嗜酸性