

医学基础实验系列教程

总主编 尤昭玲 李凡成 肖子曾

医学显微形态学 实验教程

YIXUE XIANWEI
XINGTAIXUE
SHIYAN JIAOCHENG

主 编 雷久士 文礼湘



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

医学基础实验系列教程

第三版 主编 李树刚 副主编 李树刚

医学显微形态学 实验教程

YIXUE XIANWEI
XINGTAIXUE
SHIYAN JIAOCHENG

主编 李树刚 副主编 李树刚



中国医学出版社
CHINA MEDICAL UNIVERSITY PRESS

• 医学基础实验系列教程 •

医学显微形态学实验教程

YIXUE XIANWEI XINGTAIXUE SHIYAN JIAOCHENG

总主编 尤昭玲 李凡成 肖子曾

主 编 雷久士 文礼湘

副主编 朱 伟 吴长虹 唐 群 李 花

编 者 (以姓氏笔画为序)

文礼湘	朱 伟	刘春燕	刘慧萍
孙晓峰	李 花	李迎秋	吴长虹
余 颜	张 熙	陈 丽	罗 琳
屈 波	赵爱民	唐 群	雷久士



人民军医出版社

PEOPLE'S MILITARY MEDICAL PRESS

北 京

图书在版编目(CIP)数据

医学显微形态学实验教程/雷久士,文礼湘主编. —北京:人民军医出版社,2009.10
(医学基础实验系列教程)

ISBN 978-7-5091-2969-2

I. 医… II. ①雷…②文… III. 人体形态学—显微术—实验—教材 IV. R32-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 158947 号

策划编辑:杨磊石 文字编辑:刘颖颖 责任审读:张之生

出版人:齐学进

出版发行:人民军医出版社

经销:新华书店

通信地址:北京市 100036 信箱 188 分箱

邮编:100036

质量反馈电话:(010)51927290;(010)51927283

邮购电话:(010)51927252

策划编辑电话:(010)51927292

网址:www.pmmp.com.cn

印刷:潮河印业有限公司 装订:京兰装订有限公司

开本:787mm×1092mm 1/16

印张:6 字数:130 千字

版、印次:2009 年 10 月第 1 版第 1 次印刷

印数:0001~3500

定价:18.00 元

版权所有 侵权必究

购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换

内 容 提 要

本书系“医学基础实验系列教程”之一,由资深的医学生物学、组织学和病理学教师集体编写。作者根据这三门学科的教学大纲及相应的规划教材,结合显微形态学实验教学的特点和实际需要,概述了实验教学的基本要求 and 注意事项;安排了 35 个实验,包括每个实验的目的要求、器材标本、实验内容和操作方法,同时列举了 49 个临床病案进行分析讨论。本书内容实用,阐述简明,注重加强医学生动手、动脑能力的培养,主要供高等中医院校和其他高等医学院校医学基础实验课教学之用。

“医学基础实验系列教程”编写说明

随着现代医学科学技术、教育科学技术的进步与发展,医学教学理念也发生了深刻变化。尤其在基础医学教学领域,不仅要求在教学过程中传授理论知识,更要求加强学生的动手能力训练,而且还要求教学方法、内容、手段的规范和先进,以适应时代的发展,满足高等医学院校招生规模迅速扩大的需求。

为此,我们根据近年来的基础医学教学实践与经验,并借鉴其他院校经验,编写了本套“医学基础实验系列教程”,包括:《人体解剖学实验教程》《医学机能学实验教程》《医学显微形态学实验教程》《分子生物与生物化学实验教程》《病源免疫学实验教程》,主要适合于高等中医院校、高等医学院校医学基础实验课的教学之用。

由于我校医学基础实验教学条件所限,该套教程的编写可能存在某些不足之处,恳请读者及有关教师批评指正。

总主编 尤昭玲 李凡成 肖子曾

2009年6月

前 言

医学显微形态学实验教程包括医学生物学、组织学、病理学三门学科的实验课程,它们的主要研究工具都是显微镜。医学生物学是研究生命现象的本质,并探讨生命发生、发展规律的学科;组织学是研究正常人体的微细结构及其相关功能的学科;病理学是研究疾病发生、发展和转化规律,阐明疾病本质的医学基础学科。显微形态学实验要求学生在光学显微镜下仔细观察切片中的内容,辨别各种组织及细胞的形态和内部构造。在熟练掌握光学显微镜结构的基础上再观看一些电子显微镜照片,了解各种细胞、组织、器官的超微结构。通过这些实际观察,加深对理论知识的理解,培养学生独立工作和分析、解决问题的能力。

在编写过程中,尽管我们通力合作,努力使教程符合实验教学的要求,但由于编者水平有限,书中仍难免欠妥和错漏之处,欢迎读者不吝指正。

雷久士 文礼湘

2009年6月

目 录

绪论 实验须知	(1)
第一篇 医学生物学实验	(6)
实验一 光学显微镜的基本结构和使用方法	(6)
实验二 动物细胞的形态结构	(9)
实验三 细胞器及细胞的活体染色	(11)
实验四 细胞的有丝分裂	(12)
实验五 小鼠骨髓细胞染色体的制备及观察	(14)
实验六 人类染色体的观察与核型分析	(16)
第二篇 组织学实验	(19)
实验一 上皮组织	(19)
实验二 结缔组织	(21)
实验三 血液	(22)
实验四 软骨、骨组织及骨发生	(23)
实验五 肌组织	(24)
实验六 神经组织	(25)
实验七 循环系统	(27)
实验八 免疫系统	(28)
实验九 消化系统	(29)
实验十 呼吸系统	(32)
实验十一 泌尿系统	(33)
实验十二 生殖系统	(34)
实验十三 内分泌器官	(36)
实验十四 皮肤	(37)
实验十五 感官	(39)
第三篇 病理学实验	(42)
实验一 细胞、组织的适应和损伤	(49)
实验二 损伤的修复	(50)
实验三 局部血液循环障碍	(51)
实验四 炎症	(53)
实验五 肿瘤	(55)

实验六 心血管系统疾病	(58)
实验七 呼吸系统疾病	(59)
实验八 消化系统疾病	(61)
实验九 造血系统疾病	(63)
实验十 泌尿系统疾病	(63)
实验十一 生殖系统和乳腺疾病	(65)
实验十二 内分泌系统疾病	(66)
实验十三 神经系统疾病	(67)
实验十四 传染病与寄生虫病	(68)
第四篇 临床病例讨论	(71)

绪论 实验须知

一、实验教学要求和实验室守则

1. 实验前

(1)仔细阅读本课程和有关课程的讲义,了解实验的目的、要求、步骤和操作程序。充分理解实验设计原理,预测实验结果。

(2)结合实验内容复习有关理论。实验课的内容有模型、大体标本和切片标本三种,其中以切片标本为主。切片标本又分观察内容和示教内容两部分。

2. 实验时

(1)遵守课堂纪律,准时到达实验室,中途因故外出或早退应向教师请假。

(2)保持实验室的整洁,实验器材的安放力求整齐、稳当。

(3)检查实验器材是否完备,熟悉实验仪器的性能和基本操作方法。

(4)严格按实验程序认真操作,不得进行与实验无关的活动。实验操作遇有疑难时,要随时找老师解决。

(5)爱护实验器材、实验动物和标本,节省实验用品、药物和试剂。

(6)注意安全,严防触电、火灾、被动物咬伤及中毒事故的发生。

(7)仔细、耐心地观察实验过程中出现的现象,真实客观地记录实验结果,并加上必要的文字注释,有时还需要绘制图形或曲线进行分析。实验中的每项结果都应随时记录,不可单凭记忆,更不可随意修改,以免发生错误或遗漏。实验报告中应尽可能使用原始结果,若原始记录图只有1份,可采用复印等办法加以解决。应培养严谨求实的科学作风。

(8)对实验中取得的结果,应思考:①取

得了什么结果?②为什么出现这种结果?③这种结果有什么理论或实际意义?④出现非预期结果的原因是什么?

3. 实验后

(1)清点、擦洗干净手术器械,整理仪器。如果器械有损坏或短少,立即向负责教师报告。

(2)动物尸体、标本、纸片和废品应放到指定地点,不要随地乱丢,严禁丢到水池中,以免堵塞排水管。实验台应清理干净。某些试剂或药品可能有毒,或混合后会产生某种毒性,可能会污染环境,应听从老师的安排,注意安全,适当存放或进行必要的处理。严禁乱放乱弃。要树立牢固的自身安全和环境保护意识。

(3)值日生应搞好实验室的清洁卫生工作,离开实验室前应关灯,关窗,关水龙头。

(4)整理、分析实验结果,认真书写实验报告,按时递交任课教师批阅。

二、显微镜的保养

1. 取送显微镜时,必须右手握住镜臂,左手托住镜座,轻拿轻放。

2. 显微镜的使用,一定要按实验指导写的方法和步骤,认真仔细去做,否则容易损坏标本和镜头,又达不到看清物像的目的。

3. 观察标本时,一定要先用低倍镜观察,再用高倍镜,低倍镜能看清的,就不必用高倍镜。

4. 不能用硬纸擦透镜,必须用干净的擦镜纸或细软纱布,朝一个方向擦拭透镜,以免损坏镜头。

5. 不要随便转动粗细调节器,以免机器

损伤,调节失灵。

6. 载物台要保持清洁、干净,不要让水或其他液体(酸、碱或其他化学药品等)流到台上,以免生锈或腐蚀。

7. 避免阳光直接照射,要防潮湿、防灰尘,经常保持镜体和镜体箱的干燥和清洁。

三、学生在使用显微镜过程中常犯的错误

1. 显微镜安放位置不当,有碍操作 显微镜安放不是靠前就是靠后,或位置靠右,甚至把镜筒向着自己。

2. 不能迅速找到要观察的物像 没有按简明、合理的程序操作。先使用视野宽的低倍镜,把要观察的材料放通光孔中央,放下镜筒使物镜下端与装片的距离约 0.5cm,沿逆时针方向徐徐调节粗准焦螺旋,同时左眼注视视野,直到看清物像。如果第一次标本未进入视野,那么要重新操作,在调节粗准焦螺旋的同时,移动装片,直到看见物像为止。在具体操作时,也可以玻片表面杂质或气泡为参照物,当杂质出现时,表明物距基本调好,再移动玻片,即可找到所要观察的物像。

3. 高倍物镜的使用方法不正确 由于高倍物镜的工作距离小,有的学生害怕把镜头损坏,一旦用高倍物镜时就把镜筒升上来,结果在低倍镜下观察到的物像换成高倍镜后就再也找不到了。因此,一定要注意用高倍物镜前,先用低倍物镜确定要观察的目标,调清物像后,直接转换高倍物镜,并且把光圈开大。

4. 忽视准焦螺旋的使用 有的学生在使用高倍物镜时,仍然调节粗准焦螺旋,结果往往把物镜损坏、装片压烂。

5. 认为目镜倍数越大,越清晰 如果目镜倍数过大,得到的放大虚像则很不清晰。因此,在低倍镜下能看清楚物像,不必用高

倍镜观察。

6. 忽视显微镜的保养 显微镜是精密的放大仪器,使用时要轻拿轻放。不能用手或布去擦拭镜头,要用镜头纸擦拭镜头。在清洁油镜头、玻片标本时,先用镜头纸擦去镜头及玻片上的香柏油,再换另一镜头纸蘸二甲苯擦去镜头及玻片上的香柏油,最后再换另一镜头纸擦去镜头及玻片上残留的二甲苯。实验完毕,盖上镜头盖,转动转换器,使两个物镜分开至两旁,移去载物台上的玻片,降下镜筒,装入镜箱内。

7. 单眼观察 要养成两眼同时睁开观镜的习惯。

四、显微形态学绘图方法和注意事项

1. 自备黑色 HB 铅笔(或红蓝铅笔)、橡皮、直尺、削笔刀及绘图纸(或实验报告纸)。

2. 绘图必须准确、真实、明了、整洁有序,按标本绘制,不得抄袭。

3. 绘图时,左眼注视目镜,右眼看图纸绘图。每幅图的大小、位置、各部分比例分配适宜。先用铅笔轻轻描出轮廓,经修正后再正式绘出。

4. 生物学实验所要求的图,用粗细线条表示范围,用密集圆点表示浓、暗,用疏点表示淡或明。要求轮廓清楚、线条光滑、不涂色、不投影,浓淡衬托适宜。每幅图的下方写出该图名称和放大倍数,由图向右侧引出平行线注明各部名称(也可在左侧注字),注字要用楷书,各结构名称的最末一个字应在一条直线上。

5. 每次实验结束,将图送交老师审阅,计入平时成绩。

五、观察切片标本时应注意的问题

1. 注意局部与整体的关系 不论是细胞或器官,都是立体的。在切片上,仅仅是细

胞或器官的一个切面,但由于切片的方法不同,可呈现不同的形态,下图展示了器官及细胞不同方位的切面形态(图 1~图 6)。

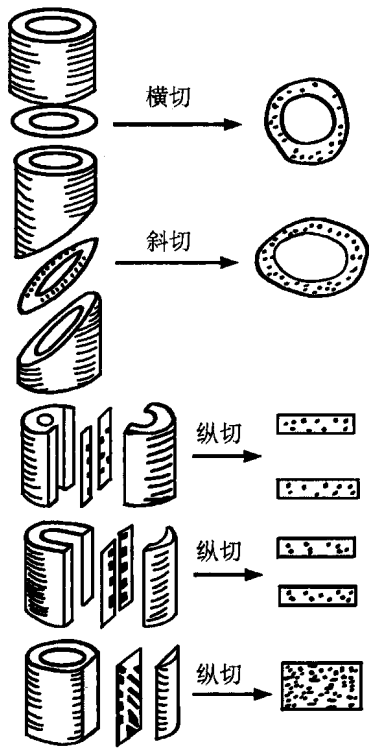


图 1 直管形器官的各种断面
(仿 Ham2 版)

2. 注意二维和三维的空间立体构象
当一个三维立体结构被切成非常小而薄的切片时,在显微镜下就仅剩二维(长度和宽度)概念了。如果你不懂得球形结构经过切片处理看上去呈一个圆形,一个管状物切片以后看上去呈一个环状,那么,你就无法正确理解器官的基本形态和结构。我们在阅片过程中必须要学会想象出隐藏在显微图像前、后方或者旁边的结构。而且,我们需要记住,切片是随意切取的人为的产物。

3. 注意正确区分人工假象 需要指出的是,切片(例如:石蜡切片)是使用了化学制剂、经过了一系列化学反应的终产物,在制作过程中不可避免地会对原有结构产生破

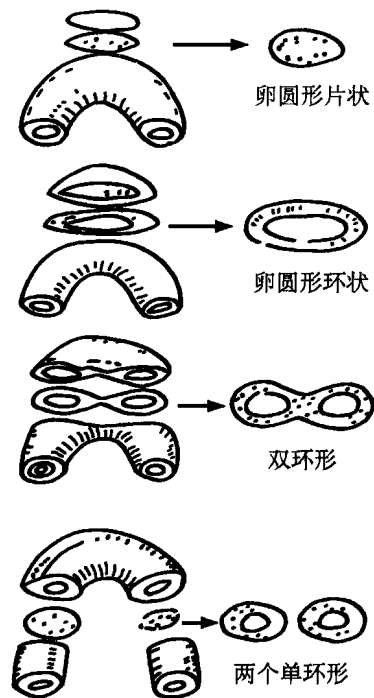


图 2 弯管形器官的各种断面
(仿 Ham2 版)

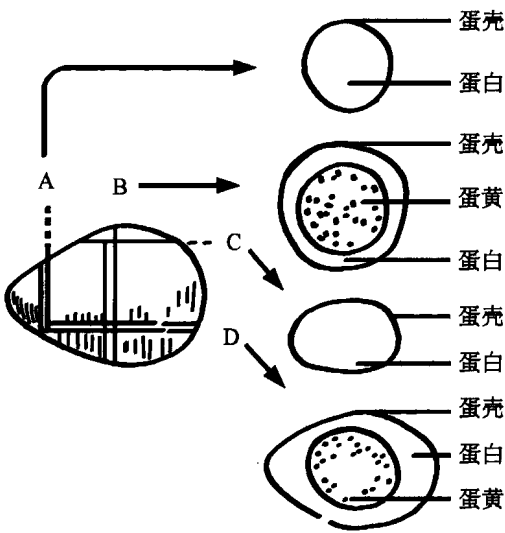


图 3 熟鸡蛋的不同切面
(仿 Ham7 版)

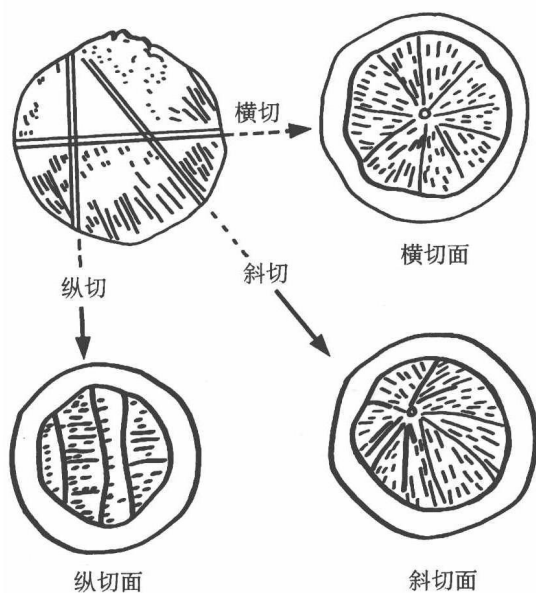


图 4 实心有隔的标本(橙子)的不同切面
(仿 Ham7 版)

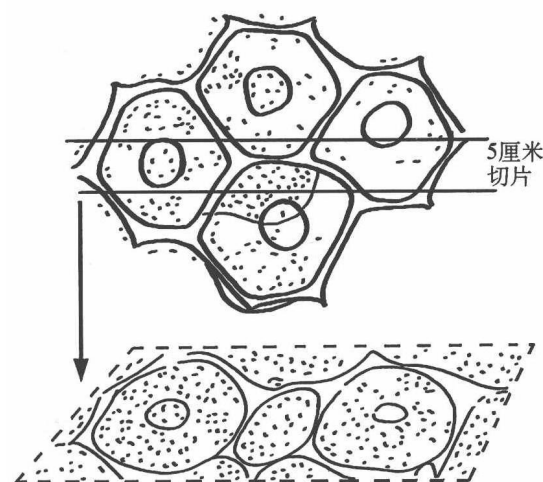


图 5 切片中所示细胞的不同切面
(仿 Ham2 版)

坏、扭曲乃至变形,这就会产生相应的“人工假象”,观察者要懂得辨认。例如:固定液使血管、纤维的收缩;染料对黏原颗粒的溶解;

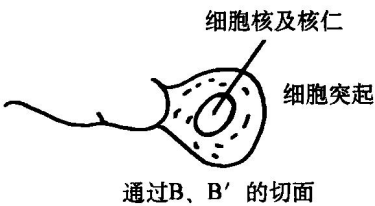
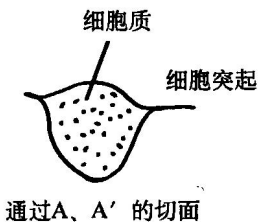
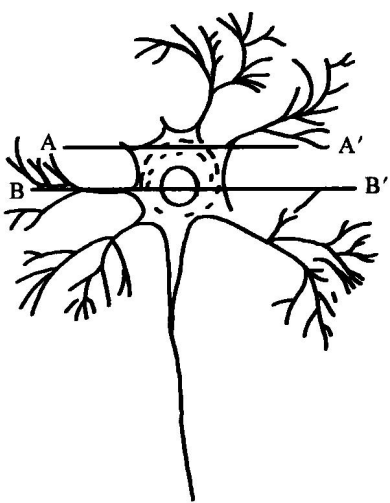


图 6 切片中所示神经细胞的各种切面
(仿 Ham 2 版)

细胞核因不与染料结合而“消失”等。

六、观察切片的方法

观察切片一般是按肉眼观察、低倍镜观察和高倍镜观察的顺序进行。

肉眼观察:观察器官切面的大致形态并初步确定要选择观察的部位。

低倍镜观察:观察器官、组织或细胞的切

面的整个形态。辨别各种器官、组织或细胞在低倍镜下的结构特点及其分布。

高倍镜观察:根据要求须进一步辨认其

细胞或组织的形态结构时,应先选择其典型形态再使用高倍镜详细地进行观察。

第一篇 医学生物学实验

实验一 光学显微镜的基本结构和使用方法

【目的要求】

1. 初步掌握普通光学显微镜的结构及其功能。
2. 熟练掌握低倍镜和高倍镜的使用方法。

【实验准备】

普通光学显微镜、羊毛交叉装片、字母装片、擦镜纸。

【实验内容和操作方法】

光学显微镜,简称光镜,是生物学和医学教学、科研和临床工作中常用的仪器,每个医学生都必须熟悉它的结构和性能,掌握其使用方法。

光镜的外形和结构因型号不同略有差异,但其基本结构和功能是相似的。

(一) 光学显微镜的基本构造及性能

光镜由机械部分、照明部分和光学部分构成(图 1-1)。

1. 机械部分

(1) 镜座:是显微镜的基座,用以支持和稳定镜体。

(2) 镜臂:连接镜座,支持镜筒和镜台的部分,便于握拿。

(3) 调节器:镜臂两侧有大小两对螺旋,用于调节焦距,称调节器。内侧大的为粗调节器,转动时可使载物台以较快速度或较大距离升降,适于低倍镜使用;外侧小的为细调节器,转动时可使载物台缓慢升降,适于高倍镜、油镜或分辨物像的清晰度和标本的不同层次。

(4) 物镜转换器:为一凸形圆盘,安装在

观察头的下方,其下面有 4 个物镜孔,可安装不同放大倍数的物镜。更换物镜时,可转动物镜转换器。

(5) 工作台:(镜台、载物台)物镜下方的方形台,用以放置标本。工作台中央有一通光孔,光线透过聚光镜经此孔射向标本。

(6) 推进器:位于工作台的后方,连一可动弧形弹簧夹,在工作台下方有安装在同一轴心的上下两个旋钮,调节这两个旋钮可分别使玻片前后或左右移动。推进器上有纵横游标尺,用以测定标本在视野中的方位及大小。

2. 照明部分

(1) 聚光器:位于工作台通光孔下方,由一组透镜组成,可使光线会聚在标本上,以增加亮度,其左下方有一小螺钮,转动时可升降聚光器:上升时,光线增强;下降时则光线减弱。

(2) 光圈:装在聚光器下方,由许多金属片组成,外侧有一小柄,拨动时可使光圈扩大或缩小,以调节亮度。扩大光圈则光线增强,适于观察深色的标本;缩小光圈则光线减弱,适于观察浅色或透明的标本。光圈下方有滤光片座(或环),可放置各式滤光片。

3. 光学部分

(1) 目镜:短圆筒状、装于镜筒上端,其上刻有 10× 或 15× 等符号,以表示目镜的放大倍数。倍数越大,目镜长度越短,反之亦然。镜筒和目镜的口径大小都统一,可互换使用。在目镜筒内沾一段头发或用钢丝可做指针,用以指明观察物像的位置。

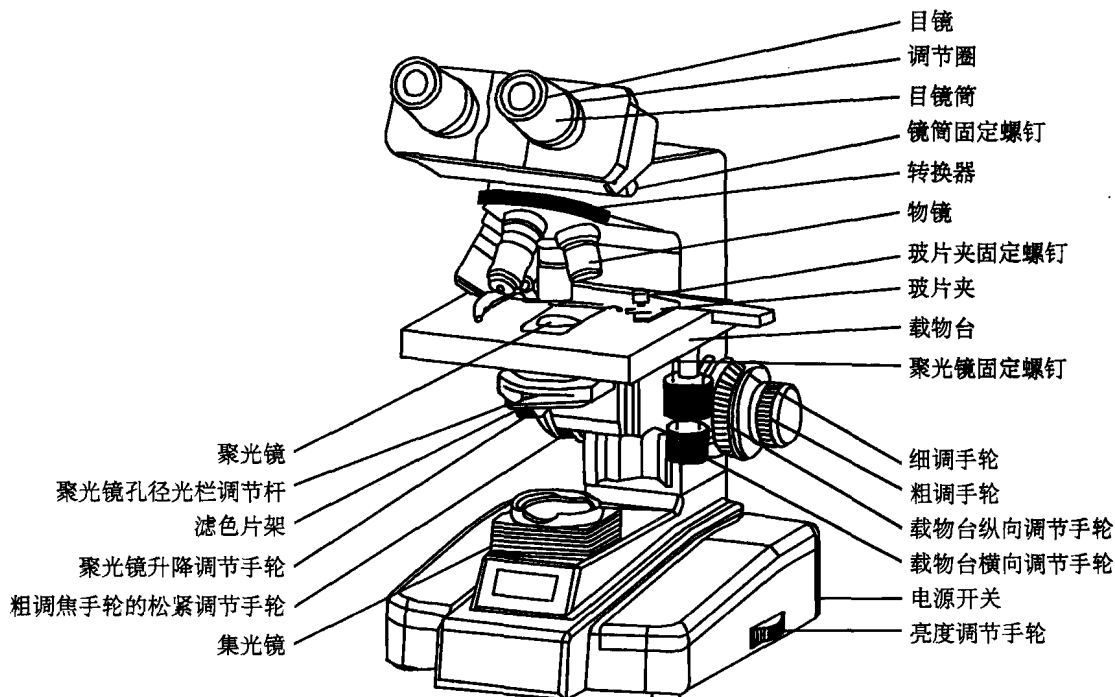


图 1-1 光学显微镜的基本构造图

(2)物镜:依放大倍数不同,分为低倍镜、高倍镜和油镜三种。

从外形上能区分三种物镜:①低倍镜,镜身短细,镜面直径最大,镜筒上刻有 $8\times$ 或 $10\times$; ②高倍镜,镜身较长而粗,镜面直径较小,其上刻有 $40\times$ 或 $45\times$; ③油浸镜(油镜),镜身最长,镜面直径最小,其上刻有 $90\times$ 或 $100\times$ 。各种物镜筒下端常以红、黄、蓝或白圈表示。

每个物镜上都刻有相应的标记。例如:在 10 倍镜上标有 $10/0.25$ 和 $160/0.17$ 。“10”表示物镜的放大倍数为 10 倍;“0.25(或 $NA0.25$)”表示镜口率为 0.25;“160”表示镜筒长度为 160mm;“0.17”表示所要求盖玻片的厚度为 0.17mm。一般而言, $40\times$ 的 NA 为 0.65; $100\times$ 的 NA 为 1.25 等。

有的高倍镜和油镜上装有弹簧,能起缓冲作用,防止物镜与镜台或玻片相撞时造成损伤。

显微镜的放大倍数 = 目镜的放大倍数 $\times$

物镜的放大倍数。例如:当所用目镜为 $10\times$, 所用物镜为 $40\times$ 时,其放大倍数就是 10×40 , 即 400 倍。

附:显微镜的分辨力

各种显微镜识别微观物像的能力,常用分辨力的概念来表示。分辨力亦称为分辨本领,是指能够区分的相近两点的最小距离。能够区分相近两点的距离越小,表示显微镜的分辨力越高。显微镜的分辨力主要是由物镜决定的。它和物镜的镜口率、照明光源的波长有直接关系,分辨力可按下式计算:

$$R = \frac{0.16\lambda}{NA} \quad (a)$$

R ——分辨力。

λ ——照明光源的波长。

NA ——镜口率(数值孔径)。

$$NA = n \times \sin \frac{\alpha}{2} \quad (b)$$

n ——物镜与标本间介质的折射率。

α ——物镜的镜口角。

镜口角是指从物镜光轴上的物点发出的光线与物镜前透镜有效直径的边缘所张的角度(图 1-2), 镜口角 α 小于 180° , 故 $\sin \frac{\alpha}{2}$ 的最大值也小于 1。

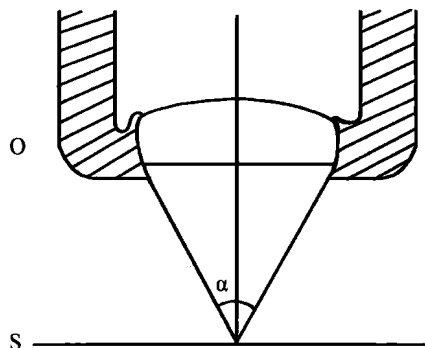


图 1-2 物镜的镜口角

O. 物镜 S. 标本面 α . 镜口角

从公式(a)可以看到, 为提高分辨力, 光源波长 λ 越小越好, 而物镜的镜口率 NA 越大越好。按可视光线的波长 λ (400~700nm) 为 540nm, 物镜的最大镜口率为 1.3 计算, $R=0.25\mu\text{m}$ 。这就是说, 相近两点的距离小于 $0.25\mu\text{m}$ 时, 普通光镜将不能分辨出这两个点。因可视光线的波长可小到 $400\mu\text{m}$, 所以一般认为普通光学镜的分辨力的极限为 $0.2\mu\text{m}$ 。

细胞中的结构如染色体、线粒体、中心体、核仁等都大于 $0.2\mu\text{m}$, 在光学显微镜中能观察到, 这种结构称为显微结构; 内质网的膜、核膜、微管、微丝等小于 $0.2\mu\text{m}$, 在普通光学显微镜下看不到, 必须借助于电镜才能看到, 称为亚显微结构。

从公式(b)可以看出, 要增大镜口率必须提高物镜与标本间介质的折射率, 空气折射率为 1, 香柏油的折射率为 1.515, 因此要增大镜口率必须用油浸物镜。

电子显微镜的分辨本领虽然由于电子波的波长短而比光学显微镜大大提高, 但由于

实际镜口率小于光学显微镜, 所以现在一般只能达到 $0.2\sim 0.4\text{nm}$, 特殊的可达 0.1nm 。

(二) 显微镜的使用方法

1. 低倍镜的使用

(1) 通电: 插上电源插头, 打开电源开关。

(2) 对光: 转动物镜转换器, 使低倍镜对准通光孔, 打开光圈, 上升聚光器, 双眼睁开, 一边注视目镜, 一边调节光亮控制钮, 直到视野内光线明亮均匀为止。

(3) 置片: 将标本有盖玻片的一面向上置于工作台上, 用弹簧夹夹住, 然后转动推进器旋钮, 将标本移到通光孔中央。

(4) 定距: 即设定双眼瞳孔眼距。调节两目镜筒之间的距离, 直到两眼看到的视场重叠为止, 看一下此时的眼距(可以从观察头面板的刻度尺读出), 然后把目镜筒视度圈的相应数值调到对准镜筒刻度为止。

(5) 调焦: (以 $10\times$ 物镜为例) 先从侧面注视低倍镜, 转动粗调螺旋, 使工作台缓慢上升至距离物镜约 0.5cm 处, 先用一只眼通过目镜观察视野, 再转动粗调螺旋, 使工作台缓慢下降, 直到视野里出现物像为止。然后两眼同时观察, 调节另一目镜的视度圈直到两眼都获得清晰图像。

2. 高倍镜的使用

(1) 依上述操作程序, 先在低倍镜下找到物像, 将要放大的部分移至视野中央。

(2) 从侧面注视物镜, 转动物镜转换器, 使高倍镜对准通光孔。

(3) 一边观察, 一边慢慢调节细调手轮(注意不要转动粗调手轮, 以免玻片与物镜相撞), 直到物像清晰为止。

如按上述操作找不到物像, 可能有如下原因: ①观察的目的物不在视野之内。这时可换回低倍镜, 将目的物移至视野中央。②玻片放反了。应将有盖玻片的一面朝上, 再按上述步骤操作。③标本太小或密度太低, 在高倍镜下难以寻找, 应在低倍镜下找准后移至视野正中央, 再转高倍镜观察。④标本