

郑若玄 编著

实用细胞学技术

科学出版社

内 容 简 介

本书介绍细胞制备技术。内容共分四部分：第一部分光学显微镜的制片技术；第二部分电子显微镜超薄切片技术；第三部分光学显微镜放射自显影技术；第四部分电子显微镜放射自显影技术。着重于方法的介绍，叙述具体扼要，初学者易于掌握，可供生物学、医学研究工作和教学工作者参考。

实 用 细 胞 学 技 术

郑若玄 编 著

*

科 学 出 版 社 出 版

北京朝阳门内大街 137 号

石家庄地区印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1980 年 6 月第 一 版 开本：787×1092 1/32

1980 年 6 月第一次印刷 印张：11 5/8

印数：0001—8,650 字数：259,000

统一书号：13031·1231

本社书号：1712·13—10

定价：1.45元

前 言

随着医学和农业生产的迅速发展，细胞学研究，就显得愈来愈重要了。由于其他技术科学的发展给细胞科学的深入研究提供了有利条件，所以近年来细胞学发展迅速，已经从显微水平深入到超显微和分子水平，并且将生物学、化学和物理学三者交融在一起，成为一种新的综合性学科。

细胞是生物体的基本形态结构和功能单位。对细胞结构的认识及掌握它的功能规律，是解决医学难题和提高农业生产的重要手段之一。所以细胞学研究的方法问题，便是一项重要的技术了。当此全国人民热烈欢呼我们伟大祖国迈进社会主义现代化建设新时期，举国上下掀起了学习世界先进科学技术的新高潮，为实现敬爱的周总理在四届人大提出的四个现代化而努力奋斗之际，受这个空前大好形势的鼓舞，基于共同学习科学的目的，我编写了这本《实用细胞学技术》。

本书共分四部份，第一部份是光学显微镜的制片技术；第二部份是电子显微镜超薄切片技术；第三部份是光学显微镜放射自显影技术；第四部份是电子显微镜放射自显影技术。这四部份在技术上既有很大区别，又是紧密相关。

尽管细胞的研究已经发展到了分子水平，但是，在实际应用上，许多经典的显微水平的细胞学技术，不论在日常医学病理检验或农业生产实践方面，仍然继续广泛而普遍地发挥着它的重要作用。因此，本书既介绍了当前正在发展的电子显微镜和电子显微镜放射自显影两项新技术，也包括了相当一部份经典的显微技术。本书的目的主要着重于介绍常用

的细胞学（少部份组织学的）制备技术，在叙述上，除对少数问题作了一些必要的理论阐明之外，在操作步骤方面以及应该注意的问题，都力求具体明了，简单扼要。

由于编者水平有限，时间又匆促，一些新资料的遗漏以及编写中的缺点和错误在所难免，希望广大读者给予批评指正。

编 者

1978年5月

目 录

第一部份 光学显微镜制片技术

引 言	1
第一章 组织的固定	3
I. 细胞的结构	3
II. 固定的基本原则	5
一、关于取材	6
二、关于固定	6
III. 固定液的性质	7
第二章 简单固定液	10
一、乙醇	10
二、甲醛	11
三、醋酸	12
四、苦味酸	13
五、铬酸	14
六、重铬酸钾	14
七、氯化汞	14
八、四氧化钒	15
第三章 混合固定液	17
一、Müller液	17
二、Flemming液	17
三、Carnoy液	18
四、Altmann液	18
五、Zenker液	19

六、Orth 液	20
七、Bouin 液	20
八、Helly 液	21
九、Stieve 液	22
十、Aoyama 液	23
十一、Houseby 液	23
十二、Gilson 液	24
十三、Danchakoff 液	24
十四、Champy 液	24
十五、Lovdowsky 液	25
十六、Bensley 液	25
十七、Feulgen 液	25
十八、Locour 液	26
十九、Susa 液 (Heidenhain)	26
二十、Susa 液	26
二十一、Hermann 液	27
二十二、乙醇-甲醛固定液 (A.F.)	27
二十三、Gomori 1-2-3 液	27
二十四、Bouin-Duboscq 液	28
二十五、Dafano 液	28
二十六、Hermann 液	28
二十七、Sanfelice 液	28
二十八、Rossman 液	29
二十九、Tellyesniczky Formal-Alcohol 液	29
三十、Methacarn 液	29
第四章 脱钙法	30
一、脱钙过程	30
二、脱钙液	31
三、脱钙兼固定方法	33
四、脱钙兼脱水方法	34
第五章 组织脱水	35

一、脱水	35
二、脱水剂	35
第六章 透明	38
第七章 组织块的包埋过程	39
一、石蜡包埋法	39
二、石蜡快速包埋法	42
三、火棉胶包埋法	42
四、明胶包埋法	43
五、甲基丙烯酸酯包埋法	45
六、GMA和Quetol 523 包埋法	46
第八章 切片法	48
一、石蜡切片法	48
二、火棉胶切片法	49
三、冰冻切片法	50
第九章 组织切片的染色	51
I. 染色剂	51
II. 细胞质的染色方法	54
III. 细胞核的染色方法	54
一、苏木精染液染色法	55
二、Unna碱性甲烯蓝染液染色法	64
三、Unna-Papenhein染液染色法	65
四、Thomas 染液染色法	65
五、Feulgen 染液染色法	66
六、Breinl 三色染液染色法	68
七、Hermann 藏红-结晶紫染液染色法	69
八、Mayer 乙醇胭脂红染液染色法	70
九、Grenacher 明矾胭脂红染液染色法	71
十、Baker 结晶紫染液染色法	71
十一、Glegg, Clermont和Leblond 过碘酸染液染色法	72
十二、比士麦棕染液染色法	73

十三、Schneider 酸性胭脂红染液染色法	73
十四、Darrow 红染液染色法	73
十五、Thionin-methyl green 染液染色法	74
十六、Pyronin-methyl green 染液染色法	75
IV. 高尔基体的染色方法	75
一、Romón y Cajal 硝酸铀染液染色法	75
二、Da Fano 硝酸钴-硝酸银染液染色法	76
三、Aoyama 氯化镉-甲醛染液染色法	77
四、Mann-Kopsch 升汞-钨酸染色法	78
五、Baker 染色法	79
六、Beam 染色法	79
七、Sevringhaus 染色法	80
八、Moliner 改良法	82
V. 线粒体的染色方法	83
一、Altmann 复红苦味酸染色法	83
二、Bensley 染色法	83
三、Regaud 染色法	84
四、Bensley-Cowdry 酸性复红-甲绿染色法	85
五、Hetherington 品蓝染色法	86
六、Champy-Kull 三色染色法	87
七、Benda 染色法	88
八、苯胺复红-碘绿染色法	89
九、Short acid-Fuchsin 染色法	90
VI. 脂肪的染色方法	91
一、苏丹Ⅲ染色法	91
二、苏丹Ⅳ染色法	91
三、尼罗蓝染色法	92
四、Leach 苏丹黑B染色法	92
五、苏丹黑染色法	93
六、苏丹黑-乙二醇染色法	94

第十章 几种重要器官的组织的染色方法	96
I. 肝脏	96
一、Mallory 苯胺蓝染色法	96
二、Heidenhain偶氮胭脂红染色法	97
三、碱性复红染色法	98
四、Hortega 碳酸银染色法——肝内胆小管的染色	99
II. 胰脏	99
一、Bensley中性结晶紫染色法	100
二、Bloom胰岛细胞染色法	101
III. 消化道	102
一、Masson 硝酸银染色法	102
二、Hoecke-Sebrunys胃腺细胞鉴别染色法	103
IV. 甲状腺	104
V. 脑下垂体	105
一、Severinghaus染色法	106
二、Kresazan垂体细胞鉴别染色法	107
VI. 神经组织	108
一、神经细胞核染色法	109
二、神经轴染色法	111
三、神经髓鞘染色法	114
四、神经胶质染色法	117
五、神经末梢	123
六、大脑髓磷脂染色法	128
七、松果体染色法	129
VII. 肌肉组织	130
一、Masson三色染色法	131
二、Best 胭脂红染色法	132
第十一章 血液标本的制备	134
一、推制血膜方法	134
二、血涂片的染色方法	135

三、网织红细胞染色方法.....	138
第十二章 骨髓标本的制备.....	140
一、涂片法.....	140
二、切片法.....	140

第二部份 电子显微镜超薄切片技术

第十三章 电子显微镜超薄切片标本的制备.....	142
I. 固定	142
II. 固定液的配制	145
一、四氧化锇固定液.....	145
二、戊二醛固定液.....	149
三、多聚甲醛固定液.....	151
四、高锰酸钾固定液.....	152
五、高锰酸钠固定液	153
六、高锰酸钾固定液	154
七、丙烯醛固定液.....	154
八、混合固定液.....	154
III. 浸渍固定	157
一、胚胎的固定方法.....	157
二、神经组织的固定方法.....	158
三、精细胞的固定方法.....	158
四、精子的固定方法.....	159
五、皮肤的固定方法.....	160
六、肝组织的固定方法.....	160
七、心肌的固定方法.....	161
八、游离细胞的固定方法.....	161
九、单层培养细胞的固定方法.....	162
十、肥大细胞的固定方法	163
十一、绿藻的固定方法	163
十二、细菌的固定方法 I (锇酸固定法)	164

十三、细菌的固定方法Ⅱ（戊二醛-锇酸固定）	165
IV. 分离细胞和细胞器的固定	165
一、分离肝细胞的固定	165
二、细胞核的固定	166
三、染色体的固定Ⅰ	167
四、染色体的固定Ⅱ	168
五、高尔基体的固定	169
六、微粒体的固定Ⅰ（从胰脏分离总微粒体）	170
七、微粒体的固定Ⅱ	171
第十四章 脱水	173
第十五章 包埋	176
一、浸透	176
二、包埋剂	176
三、环氧树脂包埋剂	178
四、环氧树脂的室温包埋法	188
五、环氧树脂的快速包埋法	188
六、聚脂树脂包埋剂	189
七、水溶性环氧树脂包埋剂	192
八、甲基丙烯酸酯包埋剂	194
九、水溶性甲基丙烯酸酯包埋剂	195
第十六章 超薄切片	197
一、切片刀的制作	197
二、刀槽的制作	200
三、修理组织块	202
四、切片刀及组织块的装置	203
五、厚切片	205
六、超薄切片	207
第十七章 染色	216
一、铅染色	217
二、铀染色	222

三、其他染液·····	224
第十八章 厚切片的染色·····	233
一、溶脱环氧树脂的溶剂·····	233
二、不脱环氧树脂的切片染色法·····	235
三、脱去树脂后染色法·····	240
第十九章 支持膜的制备·····	244
一、火棉胶膜的制备·····	244
二、Formvar 膜的制备·····	245
三、碳膜的制备·····	247
四、塑料基底碳膜的制备·····	247

第三部份 光学显微镜放射自显影技术

第二十章 光学显微镜放射自显影·····	249
I. 引言·····	249
II. 大体放射自显影的制备·····	251
一、硬组织放射自显影标本的制备·····	251
二、整个小动物的切片及放射自显影标本的制备·····	252
三、自显过程（即“曝光”）·····	253
四、显影和定影·····	253
五、大体放射自显影标本制备应注意之点·····	254
六、封片·····	254
III. 液态乳胶放射自显影的制备·····	254
一、组织的制备·····	254
二、核子乳胶的选择·····	257
三、核子乳胶的应用·····	257
四、自显过程·····	259
五、显影和定影·····	259
六、“后染”·····	260
IV. 剥落胶片法·····	261
一、组织的制备·····	261

二、乳胶膜的应用	262
三、自显过程	263
四、显影和定影	264
五、染色	264
V. 接触法	265
一、生物材料的制备	265
二、核子乳胶板的应用	265
三、显影和定影	265
四、结果的观察	266
VI. 贴附法	266
一、湿贴法	266
二、干贴法	267
三、显影和定影	267
四、染色	268
VII. 涂片法	268
VIII. 培养细胞的放射自显影制备方法	268
一、单层培养细胞的制备	269
二、培养细胞的切片法	270
IX. 组织块离体标记的放射自显影制备方法	270

第四部份 电子显微镜放射自显影技术

第二十一章 电子显微镜放射自显影	272
I. 引言	272
II. 电子显微镜放射自显影的基本原理	274
一、核子乳胶的一般特性	274
二、核子乳胶对带电粒子的反应	275
III. 雾点的产生及其消除方法	279
第二十二章 灵敏度和分辨率	281
一、灵敏度	281
二、分辨率	283

第二十三章 电子显微镜放射自显影标本的制备	292
一、放射性同位素的应用	293
二、生物材料的处理	301
第二十四章 核子乳胶膜的制备	304
一、对乳胶膜的要求	304
二、单层乳胶膜的制备	305
第二十五章 自显过程和显影过程	312
一、自显过程的条件	312
二、显影过程	313
三、标本的最后处理	319
附 录	323
一、缓冲液的配制	323
二、各种动物所需的生理盐水	331
三、几种生理盐水的配制	331
四、几种常用生物染料的光谱吸收	333
五、细胞核染色剂（碱性染料）	333
六、细胞质染色剂（酸性染料）	334
七、脂肪染色剂	335
八、活体染色剂	335
九、甲基绿的提纯方法	335
十、中性甲醛的配制	336
十一、封片剂	336
十二、光学显微镜切片中几种药剂的脱除方法	337
十三、电子显微镜常用的生物材料包埋剂	339
十四、载玻片的洗涤方法	341
十五、长度、重量及容量	342
参考文献	343
名词对照	349

第一部份

光学显微镜制片技术

引 言

自从胡克 (Hooke, 1635—1703) 用放大镜观察到软木塞的蜂房结构而第一次提出“细胞”这一名词之后, 到1838年施莱登 (Schleiden) 和施旺 (Schwann) 提出细胞学说以来, 至今已一百多年了。在这一百多年中, 特别是最近十多年, 细胞学的发展是非常迅速的, 已经从显微水平发展到超显微水平。由于在五十年代和六十年代电子显微镜技术的发展和分子生物学的兴起, 深刻地影响和推动着细胞学这门经典的生物科学, 使之迈入分子水平的新阶段, 从而把过去重在粗放的形态学描述发展到超结构以至分子水平上, 成为一门探讨生命奥秘的综合性学科。

细胞学的研究飞跃到分子水平, 研究细胞的技术亦提高到先进领域, 但是, 这并不意味着光学显微镜方面的细胞学技术已经遭到淘汰而没有多大价值了。在实际应用上, 无论医学、农业或生物科学研究等领域, 光学显微镜的细胞学技术, 仍然是一种使用得最广泛最普遍的基本技术, 而这门基本技术亦随着其他学科的发展而发展, 关于这方面除在本部份谈及之外, 在第二部份第16章和第18章也分别作了介绍。在第一部份中, 除了介绍一些新的方法之外, 还选录了相当一部分被称为经典的方法, 其中一些固定液和染色液的配制

方法，已经经受过数十年乃至一百多年的实践考验，证明这些方法仍然是很有应用价值的。

对于光学显微镜水平的制片技术来说，组织学和细胞学的界限是难于绝然分开的，在某种意义上说，它既是组织学技术又是细胞学技术，因此，在编选上便没有作过多的严格区分。

第一章 组织的固定

任何有机体，不管是成体还是某种器官，或是部份组织，只要其生命活动停止，或是代谢功能丧失，就会由于其自身内部和来自外部的两种主要因素的作用，而迅速遭到破坏。这两种因素就是有机体内部的一些分解酶和来自外界的微生物，使得有机体发生自溶现象，组织迅速改变，从而变性和腐败。所以在制备组织学或细胞学标本时，很关键的第一步就是固定。也就是说，固定的目的就是把我们所需要的组织或细胞的原有结构尽可能完整地保存下来，避免发生自溶，腐败、萎缩和变形等现象。并在下一制片过程中亦不致受到改变和破坏。此外，固定的另一种性质是使细胞的各部份易于着色。

Ⅰ. 细胞的结构

在制成的组织标本中，怎样来衡量固定的好坏呢？是否所有组织在制片过程中只需经过固定就能够获得满意的结果？当然不是，这里有许多因素需要考虑，在下面将谈到这些问题。

要鉴定固定的效果，首先是从制备的标本中细胞结构保存的完整程度来评价。我们从细胞模式图中可以看到，细胞作为生命的基本单位，要维持它的代谢和功能，是具有很复杂的结构的。在光学显微镜下可以看到，它的外面有细胞膜，膜内有细胞质和许多重要的细胞器，例如细胞核、线粒