

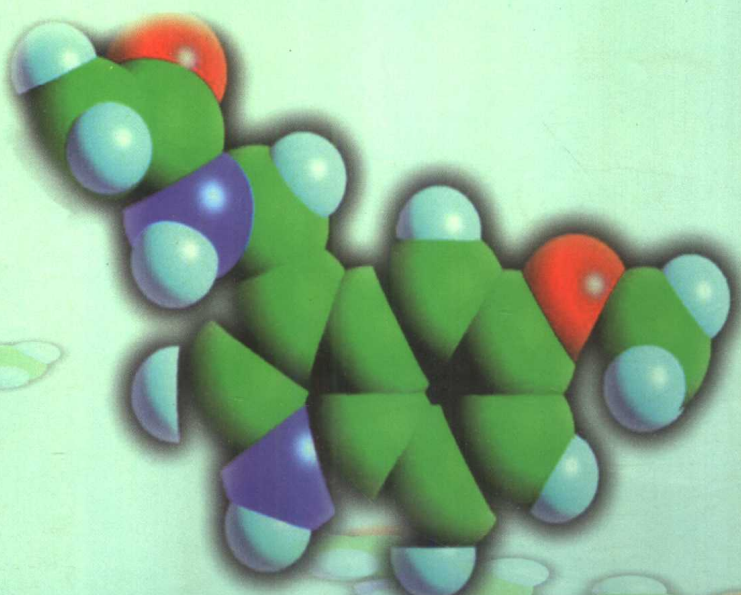


面向 2 1 世 纪 课 程 教 材

形态学科实验指导

(供中医、中西医结合、针灸、骨伤专业本科、研究生用书)

主编 高书亮 韩立民



中国协和医科大学出版社

• 面向 21 世纪课程教材 •

(供中医、中西医结合、针灸、骨伤专业本科、研究生用书)

形态学科实验指导

主 编 高书亮 韩立民

编 委 (以姓氏笔画为序)

万红娇 刘小敏 李大明

李芳莹 肖 纯 高书亮

韩立民 熊自敏

参加编写人员 (以姓氏笔画为序)

万红娇 王民楷 刘小敏

刘金花 李大明 李芳莹

匡 冰 肖 纯 高书亮

黄佩蓓 蒋以号 韩立民

彭泽华 熊自敏

中国协和医科大学出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

形态学科实验指导/高书亮 韩立民主编. —北京: 中国协和医科大学出版社, 2000. 6

面向二十一世纪课程教材

ISBN 7-81072-122-4

I. 形… II. 高… III. 形态学-实验-中医学院-教材 IV. Q13-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2000) 第 27021 号

·面向 21 世纪课程教材· 形态学科实验指导

主 编: 高书亮 韩立民
责任编辑: 林呈煊

出版发行: 中国协和医科大学出版社
(北京东单三条九号 邮编 100730 电话 65228583)

经 销: 新华书店总店北京发行所
印 刷: 北京丽源印刷厂

开 本: 787×1092 毫米 1/18 开
印 张: 12
字 数: 248 千字
版 次: 2000 年 7 月第一版 2000 年 7 月北京第一次印刷
印 数: 1—3000
定 价: 23.00 元

ISBN 7-81072-122-4/R·117

(凡购本书, 如有缺页、倒页、脱页及其它质量问题, 由本社发行部调换)

编审委员会名单

主任委员：皮持衡

副主任委员：刘红宁 张天富 韩立民

委员：（按姓氏笔画为序）

马超英 方永谦 皮持衡

刘红宁 刘晓庄 张天富

杜放梅 邱正荣 陈 奇

陈目新 陈明人 肖宏浩

余运初 林谋信 徐 彭

韩立民 甄德儒

序

教育部（原国家教委）面向 21 世纪高等医药教育教学内容和课程体系改革计划——高等中医药院校实验教学改革与实践课题由江西中医学院承担，经过了 6 个春秋的扎实工作，作为该课题的重要成果——《医学功能学科实验指导》、《形态学科实验指导》、《实验针灸学实验指导》、《实验中医学基础》、《中医药物理实验》、《中医药基础化学实验》出版，实在是可喜之事。

几年来，江西中医学院以邓小平同志建设有中国特色社会主义理论为指导，深化改革，建立与完善了适应中医药院校实验教学需要的管理新模式，改变了长期一贯制的以课程来建立实验室并开设实验课的体制，重点突出了设计性实验和创新实验的设计，改变了传统的教学管理体系和传统的教学手段和方法，计算机模拟手段和 CIA 辅助教学进课堂进学生宿舍，应该说江西中医学院完成此课题的过程，也是实验教学乃至整个教学改革的深化过程。

中共中央、国务院颁布关于深化教育改革全面推进素质教育的决定之后，实验教学为培养高素质创新人才的作用提到了新的高度，这既是对我们工作的肯定，同时又是对我们工作的鞭策，我们将进一步做好实验教学改革、研究和实践。

这些教材在编写过程中得到了院内专家、兄弟院校专家、中国协和医科大学出版社、教育部高教司领导的热情关怀和支持，在此一并致谢。至于书内瑕疵之处，欢迎指正。

皮持衡
2000 年 6 月

前 言

21 世纪是以知识经济为主导的时代, 医学教学改革面对着复合型人才的培养, 面对着综合素质教育这一新课题, 医学课程体系, 实验教学设置、体制、内容、手段、方法的改革也势在必行。此教材是作为国家教委 21 世纪实验教学改革课题中的一项内容, 应运而生的。

基础医学形态学科实验涉及人体解剖学、组织胚胎学、医用生物学、病理解剖学、人体寄生虫学, 这些学科的实验大部分是形态结构的观察, 从大体系统器官到显微的组织细胞, 从正常的到病理的, 由原来分散的状态综合为一本教材, 形成一个较为系统与完整的理论体系。

在编写安排上, 总的实验内容分为基本技能训练, 验证理论实验, 综合设计实验三篇, 每篇下分若干章, 每章包含数个实验。每个实验基本上按照 [目的] [实验材料] [内容和方法] [小结和思考题] 的格式编排。

在实验的设置和编写上, 主要立意在于加强和培养学生的观察和动手能力, 培养学生提出问题、分析问题、解决问题的创新能力; 同时培养学生在科学工作中严肃的态度, 严格的要求, 严密的工作方法和实事求是的作风。此外, 结合中医中药理论, 在实验设计方法突出中医特色。

此书曾作为内部教材, 于 1994 年出版, 供中医、骨伤、中西医结合、推拿等专业使用, 已连续使用 5 年, 成为学生良好的教材和参考书。在认真总结经验, 适应实验教学改革及课程体系改革的基础上, 我们进行了重新编写, 增加了基本技能及病理学的有关内容, 同时考虑到微生物与免疫学的特殊性, 本书不再编入。

本书由长期从事基础医学教学与研究的教师和实验教学人员共同编写。但由于实验教学内容的复杂性以及时间仓促等原因, 本书依然可能存在着不妥和错误之处, 希望采用本书的教师、学生及有关专家提出宝贵意见, 以利进一步完善和提高。

编 者
2000 年 4 月

目 录

附录 1 实验规则和注意事项	(1)
附录 2 显微镜管理制度	(2)
附录 3 形态学科实验的学习方法	(3)
附录 4 形态学科实验的作业及要求	(5)

第一篇 基本技能训练

第一章 显微镜的结构和使用	(1)
实验一 普通光学显微镜的结构和使用方法	(1)
附 其他几种显微镜简介	(4)
实验二 显微测量术和组织细胞形态结构的观察和测量	(5)
实验三 参观了解电子显微镜	(7)
第二章 组织切片及染色技术	(10)
实验一 石蜡切片的制作技术	(10)
附 病理快速石蜡切片法	(13)
实验二 组织化学和细胞化学技术	(13)
第三章 游离细胞检查技术	(18)
实验一 血细胞计数	(18)
实验二 腹腔肥大细胞的观察	(21)
实验三 血液涂片的制作技术	(22)
第四章 人外周血细胞培养及染色体制作技术	(24)
第五章 玻璃器皿的消毒和清洁法及常用试剂的配制	(27)
实验一 玻璃器皿的消毒和清洁法	(27)
实验二 常用试剂的配制	(28)

第二篇 验证理论实验

第六章 医用生物学	(40)
实验一 家兔的解剖	(40)
实验二 细胞形态及细胞器的观察	(51)

实验三 人类染色体核型分析·····	(53)
实验四 细胞的有丝分裂·····	(55)
实验五 人类皮纹分析·····	(59)
第七章 人体解剖学·····	(64)
实验一 运动系实验 (一) ·····	(64)
实验二 运动系实验 (二) ·····	(65)
实验三 运动系实验 (三) ·····	(66)
实验四 运动系实验 (四) ·····	(67)
实验五 消化系实验·····	(68)
实验六 呼吸系实验·····	(70)
实验七 泌尿系实验·····	(71)
实验八 生殖系实验·····	(72)
实验九 循环系实验 (一) ·····	(73)
实验十 循环系实验 (二) ·····	(74)
实验十一 内分泌系、感觉器实验·····	(75)
实验十二 神经系实验 (一) ·····	(77)
实验十三 神经系实验 (二) ·····	(78)
实验十四 神经系实验 (三) ·····	(79)
实验十五 神经系实验 (四) ·····	(80)
第八章 组织胚胎学·····	(82)
实验一 上皮组织·····	(82)
实验二 结缔组织·····	(83)
实验三 血液·····	(85)
实验四 肌组织、神经组织·····	(86)
实验五 神经系统·····	(88)
实验六 消化系统·····	(90)
实验七 循环系统·····	(92)
实验八 呼吸系统、泌尿系统·····	(95)
实验九 皮肤、感觉器官、内分泌系统·····	(97)
实验十 生殖系统·····	(99)
第九章 病理解剖学·····	(103)
实验一 组织损伤与修复·····	(103)
实验二 局部血液循环障碍·····	(105)
实验三 电教录像·····	(107)

实验四 炎症	(107)
实验五 肿瘤	(110)
实验六 心血管系统疾病	(113)
实验七 呼吸系统疾病	(115)
实验八 消化系统疾病	(118)
实验九 泌尿系统疾病	(120)
实验十 传染病	(122)
第十章 病理生理学	(125)
实验一 机体的血 - 脑脊液屏障和淋巴结屏障机能	(125)
实验二 肝脏对肾上腺素的解毒作用	(125)
实验三 环境温度对机体耐受缺氧的影响	(127)
实验四 年龄及代谢状况不同对缺氧耐受性的影响	(128)
实验五 组胺对血管壁通透性的影响	(129)
实验六 实验性肺水肿	(129)
实验七 实验性酸中毒	(131)
实验八 兔失血性休克	(133)
实验九 急性炎症的局部表现及血管通透性的改变 (附空气栓塞)	(135)
实验十 炎症渗出物中粒细胞的吞噬作用	(136)
实验十一 实验性肿瘤	(137)
实验十二 急性左心衰竭	(139)
实验十三 急性人工气胸	(140)
实验十四 实验性肝细胞性黄疸	(142)
实验十五 氨在肝性脑病发病机制中的作用	(146)
实验十六 急性肾功能不全	(147)
第十一章 人体寄生虫学	(151)
实验一 吸虫纲、绦虫纲	(151)
实验二 线虫纲	(154)
实验三 原虫、昆虫	(156)
第十二章 预防医学与医学统计学	(158)
实验一 计量资料统计分析 (一)	(158)
实验二 计量资料统计分析 (二)	(160)
实验三 计量资料统计分析 (三)	(163)
实验四 计数资料统计分析 (一)	(166)

实验五	计数资料统计分析(二)	(170)
实验六	非参数统计分析(一)	(173)
实验七	非参数统计分析(二)	(176)
实验八	小鼠急性静式吸入中毒实验	(178)
实验九	有机磷农药中毒动物解救实验	(180)
实验十	传染病流行过程的分析	(181)

第三篇 综合设计实验

第十三章	人体重要器官的形态结构综合比较观察	(184)
实验一	肝的形态结构综合比较观察	(185)
实验二	胃的形态结构综合比较观察	(186)
实验三	肺的形态结构综合比较观察	(187)
实验四	肾的形态结构综合比较观察	(188)
第十四章	大鼠实验性胃、十二指肠溃疡	(189)
第十五章	肾虚动物模型的制作	(194)
第十六章	中药对免疫功能作用的实验	(195)
实验一	免疫器官重量测定	(195)
实验二	腹腔巨噬细胞功能测定	(196)
实验三	体液免疫测定	(197)
实验四	细胞免疫测定	(198)
实验五	外周血中NK细胞活性的测定	(199)

第一篇 基本技能训练

第一章 显微镜的结构和使用

实验一 普通光学显微镜的结构和使用方法

【目的要求】

熟练掌握光学显微镜的使用方法，并了解各零件部位构造。

【实验材料】

普通光学显微镜，香柏油，擦镜纸等。

【内容和方法】

(一) 显微镜的构造 (图 1-1)

机械部分

1. 镜筒支架 是用齿条连接在微动座上，旋转粗动调焦手轮 (4) 和微动调焦手轮 (5) 可使目镜筒支架升降。
2. 目镜筒下端的物镜转换器 (6) 上有 3 只螺孔是装物镜用的，旋转转换器可使其中任意一螺孔对准目镜筒。
3. 工作台 (8) 上靠近镜筒支架一边有两只压片器是供压紧玻片的，在同一边另有 3 只十孔是专供装玻片移动尺用的。
4. 粗动调焦机构 (4) 是供物镜作粗略调焦用的，旋转粗动调焦手轮可使目镜筒升降，向内转为上升，向外旋转为下降。
5. 微动调焦机构 (5) 供物镜作微量调焦用，升降旋转方向与粗动调

焦结构相同，微动调焦范围为 $1.8 \sim 2.2\text{mm}$ 。

6. 反光镜 (11) 为工作台最下方一只可作任意角度旋转的镜，一面为平面，一面为凹面，反光镜可以从镜架上拔出。

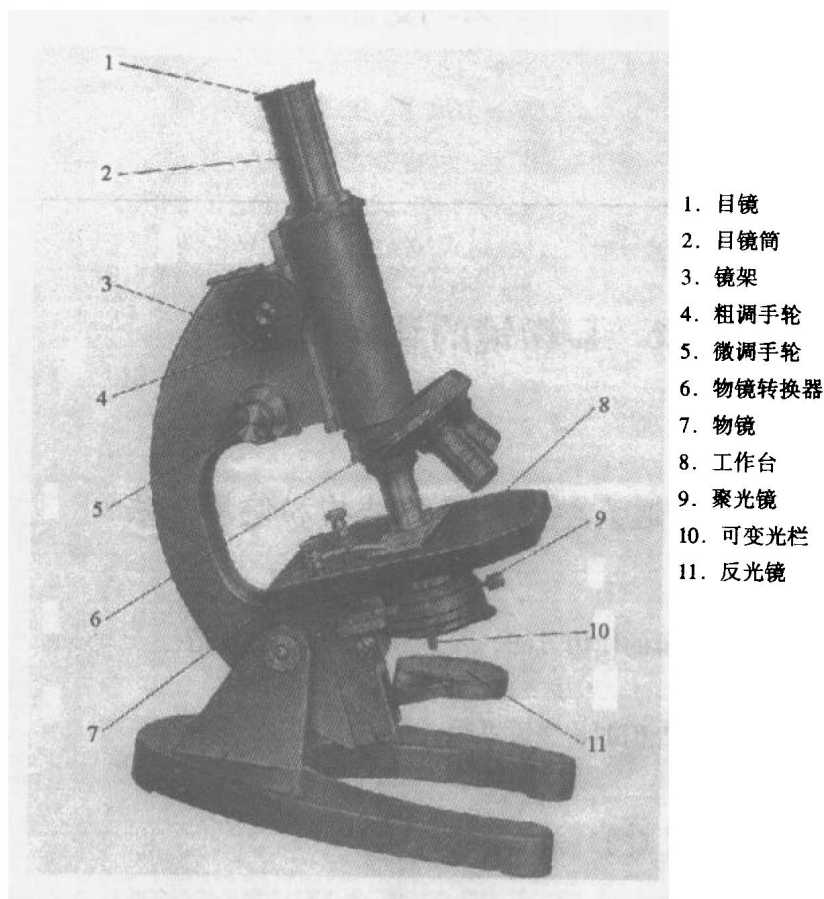


图 1-1 显微镜的构造

光学部分

光学系统由两大部分组成：

1. 成像系统 成像系统由目镜 (1) 和物镜 (7) 组成。物镜是用来将标本作第一次放大，然后目镜再将第一次放大的像作第二次放大。

2. 照明系统 照明系统由聚光镜 (9)、可变光栏 (10) 和反光镜 (11) 组成，反光镜将外来光线导入聚光镜中，然后聚光镜将外来光线会聚在标本上，这样就照亮了标本，便于观察。可变光栏是用来在使用不同数值孔径时

用的,改变可变光栏的孔径,可以适当调节照明亮度以便观察时获得清晰的物像。

(二) 显微镜的使用

1. 提拿 平时存放显微镜橱中,从橱中取出时,一手托镜臂,另一手托镜座。

2. 安放 将显微镜放在自己座位前的实验台上稍偏左侧一点。

3. 对光 转动粗调节器,略为升高镜筒,转动旋转器,使低倍镜对准镜台孔,听到旋转器边缘上的缺刻与固定扣相接合而发生的轻微咔嚓声,说明物镜的光镜已对准了镜筒孔中心,打开光圈,上升聚光器,左眼从目镜中观察,一手转动反光镜,使反光镜正对光源,使光线射入镜筒,并调整到出现光亮均匀的圆形视野为止。

4. 低倍镜的使用 将需观察的标本放在镜台上,用压片器压住标本,再稍稍移动玻片,使要观察的部分对准镜台孔的正中,俯首侧视接物镜转动粗调节轮,使接物镜下降到载玻片 0.5cm 处,然后用左眼观察,用左手将粗调节轮向逆时针方向慢慢上升,使物镜能见到物像为止,此时使用细调节器来回调一下,即可见到清晰的物像。

5. 高倍镜的使用 先在低倍镜下找到物像,把要观察的部位移到视野中央,然后转动转换器,换成高倍镜观察,在高倍镜下来回略略转动一下细调节,就可见到清晰的物像(此时光线暗可上升聚光器)。

6. 油镜的使用 从高倍镜下找到标本的视野中央,移动高倍镜,在标本的玻片上滴上一滴香柏油,然后转换用油镜头,并使镜头浸埋在油中,观察时略为调节一下细调节器,就可见到清晰的图像。观察完毕后上升镜筒,取下标本,用擦镜纸轻轻擦去油镜头上的香柏油,然后再滴上二甲苯在擦镜纸上,擦干净油镜头上的香柏油。

(三) 保养与维护

1. 显微镜应放置于阴凉、干燥、无灰尘和无酸碱蒸气的地方。为防止灰尘侵入,不用时可用塑料套把仪器全部罩住。

2. 所有镜头均经过校正,不得自行拆开。如有灰尘沾在镜头上可先用吹风球(洗耳球)将灰尘吹去,再用毛笔拂除,油污可用清洁的软细布蘸二甲苯将镜头玻璃轻轻擦净。

3. 显微镜各机械部分上如沾附灰尘,也应先将灰尘排除,然后用清洁的细软布擦干净,如果是无漆的滑动部分,应随即涂上薄薄一层无腐蚀性的

润滑剂。在清洁显微镜时要特别注意不要碰到光学零件,尤其是物镜。

4. 粗动调焦机构如发现太紧或太松时,可用一手握紧一只粗调焦手轮,一手旋转另一支手轮,太紧时将手轮旋松,太松时将手轮旋紧。这时适当地调节,可使调焦机构松紧适宜。

5. 物镜用后必须装入物镜盒中,以防碰损和沾污。为防止灰尘落入镜筒中,用完后将目镜罩装入。

【附】其他几种显微镜简介

一般实验所用的是普通复式光学显微镜。下面介绍几种其他显微镜:

(一) 特种用途复式显微镜

普通复式显微镜一般是用常光(自然光)为光源来观察标本,而特种用途显微镜在结构上和使用上都有自身的特点。现简单介绍以下三种:

1. 荧光显微镜 荧光显微镜是利用紫外光(波长 365nm)或短光波的蓝紫单色光(波长 420nm)作为激发光源,激发标本内的荧光物质,而呈现荧光映像。由于紫外光等短光波是不可见光,因此在视野中所见到的是由标本上所辐射的荧光,它与背景的反差很明显。这样可以大大提高物镜的分辨能力,可以观察到用普通显微镜不能见到的物像。荧光显微镜还装有两种滤片,激发滤片装在光源和显微镜之间,它可吸收可见光,并使短波的蓝紫光和紫外线通过;阻断滤片装在物镜和目镜之间,可吸收视野内多余的短光波,保护使用者的眼睛。

2. 相差显微镜 相差显微镜是靠装在物镜内的相位板,使直射光和绕射光发生干涉,改变了光的相位,转换成振幅差(亦即明暗差)。相差显微镜又有正反差和负反差两种装置。前者又称暗反差,是背景明亮标本暗;后者是背景暗标本明亮,但都可造成清晰的对比,便于分辨活体标本和未经染色的标本的各种结构。

3. 暗视野显微镜 又叫限制显微镜。采用暗视野集光器,使来自聚光镜的照明光线不射入到物镜内,并可以得到由标本表面的绕射光而形成的像,达到观察者眼中。因此,当视野中没有标本时,则整个视野全是黑的。这种显微镜可以观察极其微小、正在运动的物体,如螺旋体。

(二) 解剖显微镜

为一种单式显微镜,有两个镜筒,光学系统也有反光镜、接物镜和接目镜。放大倍数低者仅 2~3 倍,高者可达 200 倍左右。此种显微镜所得的物像是实体(正像),所以观察的标本有立体感,并可在物镜下进行解剖操作。

实验二 显微测量术和组织细胞形态的观察和测量

【目的要求】

1. 进一步练习使用显微镜。
2. 学会应用细胞显微测量方法，测量组织细胞的大小。
3. 掌握临时玻片标本的制备方法。
4. 观察识别细胞的基本形态。

【实验材料】

装有目镜测微器的光学显微镜，镜台测微器，载玻片，盖玻片，镊子，剪刀，吸水纸，蒸馏水，次甲基蓝溶液，洋葱鳞茎，甲状腺切片。

【内容和方法】

（一）临时玻片的制作

取一张干净的载玻片，用左手拇指和食指夹持载玻片的一端，右手的拇指和食指夹着一块清洁而柔软的布，把载玻片放在两手指夹着的布间，然后均匀地前后移动擦净载玻片的两面。载玻片小而薄，擦时必须小心。擦净盖玻片也是这样。在载玻片中央滴一滴次甲基蓝溶液。取洋葱鳞茎的肉质鳞片一小片，用镊子内口撕下一层透明的薄膜，剪成小块放于载玻片上推平，不要折叠。然后用镊子轻轻夹住盖玻片的一端。将其对侧端先接触载玻片，慢慢地倾斜盖以防产生气泡，再用吸水纸吸去多余的水分。低倍镜下观察时，应把光圈关小一点，这样观察的结构会更清晰。低倍镜下可见许多长方形的细胞，内有圆形的细胞核，细胞表面有双层轮廓细胞壁。高倍镜下，可见1~3个深黄色的核仁，在细胞质中可看到位于周围、染色很深的微细颗粒，这是细胞质的内含物，在细胞质中占大部分的无色区是液泡。

（二）显微测微尺的用法

显微测微尺分为目镜测微尺和镜台测微尺，两尺要配合使用。

目镜测微尺是一块圆形玻片，直径为20~21mm，中心刻有50或100等分的刻度。每格的长度随不同物镜的放大倍数和镜筒的不同长度而异。使用时放入目镜中。

镜台测微尺是一种被圆形玻片封固在特别载玻片中央的具有刻度的标尺，全长为1~2mm，上有100或200等分的小格，每小格的长度为0.01mm

($10\mu\text{m}$)。

显微测量时，先用镜台测微尺标定目镜测微尺每小格代表的长度，然后才能用目镜测微尺测量细胞的长度，具体操作方法如下：

1. 将镜台测微尺刻度向上放在载物台上夹好，并将测微尺刻度调到镜台孔中央。用低倍镜观察，对准焦点，看清镜台测微尺的刻度，每一大格为 0.1mm ，每一小格为 0.01mm 。

2. 旋下目镜的上透镜，将目镜测微尺有刻度的一面向下，放在目镜内的视场光栏上，再旋上上透镜。

3. 从目镜中观察镜台测微尺和目镜测微尺的分度，转动目镜和移动镜台测微尺，使两尺平行，零点对齐（图 1-2），记录目镜测微尺的全长所对应的镜台测微尺中的格数，或以“0”点开始向右找出两尺另一重合的直线，记录两重合线间两尺各自的格数，再计算出目镜测微尺每格的长度。如在低倍镜下所标定的目镜测微尺的全长（50 倍）等于镜台测微尺 63 格，也就等于 0.68mm ，则目镜测微尺每小格代表的长度为 $0.68\text{mm}/50$ ，即为 0.0136 （或 $13.6\mu\text{m}$ ）。

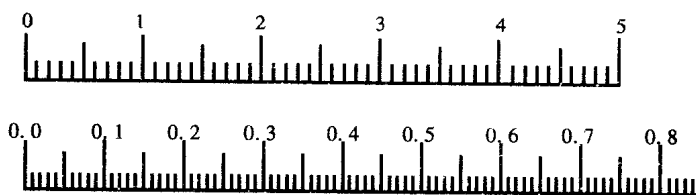


图 1-2 目镜测微器（上）和镜台测微器（下）

4. 取下镜台测微尺，换上临时洋葱装片或者甲状腺切片标本，用目镜测微尺的刻度测量细胞长度的格数，再乘以每格的微米数，即为细胞的实际长度。

如果用不同倍数的物镜与目镜进行显微测量，要重新标定目镜测微尺，方法同前。

注意：测量时应将被测量的标本移放在视野中心，因为在这个位置上镜像最清晰，像差也最小。为减少误差，在测量同一被检物时，要量 5 次以上，并采用其平均值，还需注意视野中的亮度应均匀一致，以免标尺分度左右两侧用的亮度不同而影响测量值的准确值。

根据长度和宽度测量结果可计算各种细胞、细胞核的体积及其与核质的比例，公式如下：

椭球形 $V = (4/3) \pi ab^2$ (a、b 为长短半径)

圆球形 $V = (4/3) \pi R^3$ (R 为半径)

核质比例 $NP = \frac{V_n}{V_c - V_n}$ (V_n 为核的体积、 V_c 为细胞的体积)

实验三 参观了解电子显微镜

【目的要求】

通过参观和观看录像,了解电子显微镜的基本结构、原理及其应用。

【内容和方法】

(一) 透射电镜的原理

电子显微镜利用波长很短的电子束为照明源,用电磁透镜成像,利用电子流具有波动的性质在电磁场作用下,使电子前进的轨迹产生偏转、聚焦、发放,从而通过对样品透射或反射形成不同电子密度的高度放大图像,最后显示在荧光屏上或记录在照像装置上。

目前最好的电镜分辨可达 $0.2\mu\text{m}$,放大倍数可达 80 万倍以上。

(二) 透视电镜的结构 (图 1-3)

1. 电子光学系统 主体部分,其中包括电子枪(电子发射源):由阴极、栅极、阳极三个电极组成的静电系统;聚光镜、样品室、物镜、中间镜、投影镜、荧光屏、观察室、照像室等等。作用为对样本进行成像,放大和观察记录。

2. 真空系统 包括机械泵,空气过滤器,油扩散泵及排气管道等部件。主要保持工作时绝对的真空,不允许有任何游离的气体存在。

3. 供电系统 包括安全系统,总调压器,真空电源,透镜电源,高压电源及辅助电源系统。要求工作时极高的稳定性,电流的波动小于分。

(三) 电镜的分类

除上面讲的透射电镜外,还有以下电镜:

1. 扫描电镜 是利用一束很细的电子束,在样品的表面扫描,利用反射回来的二次电子为信号,经收集和视频放大器的放大,在显像管的荧光屏上显示标本表面高度放大的图像。其图像为具高度真实感的立体图像,且样品制备简单,不必作超薄切片,因而被广泛应用于细胞表面形态和细胞膜表