

汪德耀 主编

细胞生物学实验技术与方法 (第一分册)

动物显微技术学

洪水根 编



厦门大学出版社

细胞生物学实验技术与方法

汪德耀 主编

第 一 分 册

动物显微技术学

洪水根 编

厦门大学出版社

1989年8月

细胞生物学实验技术与方法

汪德耀 主编

第一分册

动物显微技术学

洪水根 编

厦门大学出版社出版

福建省新华书店发行

厦门大学印刷厂印刷

开本787×1092 1/32 14.875印张 350千字

1989年8月第1版 1989年8月第1次印刷

印数: 1—1000册

ISBN 7—5615—0225—4/Q·7

定价: 3.00元

内 容 简 介

本书共分二篇八章，第一篇动物显微制片技术（共五章），第二篇显微镜术及显微摄影术（共三章）及附录二十条，着重从显微水平介绍生物学系有关专业必须掌握的常用基本实验技术的原理和方法，本书可作为综合性大学生物学系、农、医、林、师范等各高等院校有关专业的教材，也可供从事显微技术工作的研究人员参考使用。

目 录

前 言	1
第一编 动物显微制片技术	2
第一章 实验须知	2
第一节 实验室规则	2
第二节 玻璃器皿的清洁	3
一、玻璃器皿的洗涤	3
（一）普通洗涤	3
（二）化学洗涤	3
二、玻璃器皿的干燥	4
第三节 载玻片和盖玻片	4
一、载玻片的规格和厚度	4
二、盖玻片的规格和厚度	5
三、载玻片和盖玻片的清洁	5
四、旧载玻片和盖玻片的利用	5
第四节 天平	6
一、药物天平	6
二、扭力天平	7
三、分析天平	7
第五节 试剂和溶液	8
一、化学试剂的规格与分类	8
二、溶液的浓度	10
（一）溶液浓度的表示方法	10
1、百分比浓度（%）	10
2、克分子溶液	10

3、	当量溶液	1 1
(二)	酒精稀释法	1 2
三、	一般溶液的配制方法	1 2
四、	缓冲溶液	1 2
(一)	缓冲溶液的作用、原理	1 3
(二)	常用的缓冲溶液及其配材(见附录四)	1 3
(三)	几种生理盐水的配制(见附录五)	1 3
第二章	动物显微制片技术概述	1 4
第一节	动物显微制片法的分类	1 4
一、	非切片法	1 4
二、	切片法	1 4
第二节	切片法的一般步骤	1 5
一、	杀死、取材与固定	1 5
二、	洗涤	1 5
三、	脱水	1 5
四、	透明	1 5
五、	透入	1 5
六、	包埋	1 6
七、	切片	1 6
八、	贴片	1 6
九、	染色	1 6
十、	封藏	1 6
第三章	切片技术原理与方法	1 7
第一节	动物杀死的方法	1 7
第二节	取材	1 7

液体

一、	取材的方法	17
二、	取材的注意事项	18
第三节	固定和固定液	18
一、	固定的作用和目的	18
二、	组成固定液的条件	19
三、	固定液作用的方法	19
四、	固定液的限制	20
五、	固定的注意事项	20
六、	固定液的种类和性能	21
(一)	简单固定液	21
1、	甲醛	21
2、	乙醇(酒精)	22
3、	醋酸	22
4、	苦味酸	22
5、	铬酸	23
6、	重铬酸钾	23
7、	氯化汞	24
8、	四氧化铁	25
(二)	混合固定液	25
1、	津克氏液	26
2、	霍兰德一波恩氏液	26
3、	黑利氏液	26
4、	切姆比氏液	27
5、	弗列明氏液	27
6、	雷戈德氏液	28
7、	旦方诺氏液	28

8、	阿特曼氏液（之一）	28
9、	阿特曼氏液（之二）	28
10、	卡诺伊氏液	29
第四节	洗涤	29
一、	洗涤的目的	29
二、	洗涤的原则	29
三、	洗涤的方法	30
第五节	脱水	30
一、	脱水的目的	30
二、	脱水的方法	31
三、	脱水剂的类型	31
1、	非石蜡溶剂的脱水剂	31
2、	脱水兼石蜡溶剂的脱水剂	31
四、	常用的脱水剂及使用的注意事项	31
（一）	乙醇（酒精）	31
（二）	丙酮	31
（三）	正丁醇	32
（四）	叔丁醇	32
（五）	环己酮	32
（六）	二氧陆圀	32
第六节	透明	32
一、	透明的目的	32
二、	常用的透明剂	33
（一）	二甲苯	33
（二）	甲苯	33
（三）	苯	33

(四)	氯仿	3 3
(五)	香柏油	3 3
(六)	松酯醇	3 3
第七节	透入与包埋	3 4
一、	透入与包埋的目的	3 4
二、	包埋剂(支持剂)	3 4
(一)	石蜡	3 4
(二)	火棉胶	3 5
(三)	炭蜡	3 5
三、	包埋方法的种类	3 5
(一)	融化法	3 5
(二)	挥发法	3 5
(三)	双重法	3 5
四、	石蜡透入的操作	3 5
五、	包埋	3 6
(一)	包埋的用具	3 6
(二)	包埋的操作	3 7
(三)	包埋中出现的问题及原因	3 7
第八节	切片	3 8
一、	切片前的准备工作	3 3
(一)	石蜡块的固着	3 8
(二)	修块	3 8
(三)	磨刀	3 8
二、	切片机	4 0
三、	石蜡切片的操作	4 0
四、	切片过程出现的问题及其解决办法	4 4

第九节	贴片·····	4 5
一、	贴片的用具·····	4 5
二、	贴片的方法·····	4 6
第十节	染料·····	4 7
一、	染料的分类·····	4 7
	(一) 天然染料·····	4 7
	(二) 人工染料·····	4 7
二、	染料必须具备的条件·····	4 8
三、	染料的化学结构特点·····	4 8
	(一) 发色团·····	4 8
	1、染料产生颜色的原因·····	4 8
	2、发色团产生颜色的机制·····	4 8
	(1) 光的吸收和颜色·····	4 8
	(2) 有机化学物的价键结构和光的吸收·····	4 8
	(二) 助色团·····	5 1
	1、酸性助色团及其作用·····	5 2
	2、碱性助色团及其作用·····	5 3
四、	酸性染料和碱性染料·····	5 5
五、	常用的染料的性质及其配制·····	5 5
	(一) 天然染料·····	5 6
	1、苏木素(苏木精)·····	5 6
	(1) 海登汉氏铁苏木素·····	5 6
	(2) 哈里斯氏苏木素·····	5 6
	(3) 埃利希氏苏木素·····	5 7
	(4) 卡拉基氏(Carrazzi's)苏木素(汪德耀改良)·····	5 8
	2、洋红·····	5 8

(1) 硼砂洋红	58
(2) 明矾洋红	59
(3) 醋酸洋红	59
(二) 人工染料	59
第十一节 染色	62
一、 染色的目的	62
二、 染色的理论	62
(一) 染色的物理作用	62
(二) 染色的化学作用	63
三、 细胞的染色	63
(一) 细胞核的染色	63
1、 细胞核的成分	63
2、 核的染色	64
(1) 核仁的染色	64
(2) 染色体的染色	65
(3) 核质的染色	65
(二) 细胞质的染色	65
(三) 细胞器的染色	66
1、 线粒体的染色	66
2、 高尔基体的浸染	66
(1) 四氧化钨的浸染	66
(2) 硝酸银的浸染	67
四、 染色的方法	68
(一) 整体染色法	68
(二) 组织块染法	68

(三) 蜡带染色法.....	68
(四) 切片染色法.....	68
(五) 特殊染色法.....	69
五、 切片染色法的操作步骤.....	69
六、 染色的一般注意事项.....	69
第十二节 媒染.....	70
一、 媒染染料和媒染剂.....	70
(一) 媒染染料.....	70
(二) 媒染剂.....	71
二、 媒染的机理.....	71
第十三节 分化.....	73
一、 分化的目的.....	73
二、 分化的原理.....	73
三、 分化剂的种类.....	73
第十四节 封藏.....	74
一、 封藏的目的.....	74
二、 封藏剂的选择.....	74
三、 常用的封藏剂.....	75
(一) 湿性封藏剂.....	75
(二) 干性封藏剂.....	75
第十五节 石蜡切片技术操作程序及时间表.....	75
第十六节 石蜡切片法实例.....	76
一、 细胞形态染色.....	76
(一) 海登汉铁矾苏木素染色法.....	76
二、 细胞器染色.....	78
(一) 阿特曼染色法.....	78

(二) 高尔基体浸染法.....	79
三、细胞化学染色.....	80
(一) 孚尔根反应.....	80
(二) 布拉舍反应.....	82
(三) 脱氧核糖核酸(DNA)、多糖、 蛋白质的三色染色法.....	83
(四) 显示酸性磷酸酶的细胞化学法.....	85
(五) 糖类的显示方法——PAS反应 (McManus, 1946).....	86
(六) 脂类的显示方法.....	88
(七) 蛋白质的显示方法——快绿染色 法显示细胞的碱性蛋白及酸性蛋白.....	92
第十七节 火棉胶切片法.....	93
一、火棉胶切片法原理.....	93
二、火棉胶切片法的操作.....	93
第十八节 冰冻切片法.....	94
一、取材.....	94
二、固定.....	95
三、切片.....	95
第十九节 特殊包埋法.....	97
一、碳蜡包埋法.....	97
二、双包埋法.....	98
三、明胶包埋法.....	99

第四章 非切片技术的原理与方法 100

第一节 整体制片法 100

一、暂时和半永久性制片法 100

(一) 甘油法 100

(二) 甘油明胶法 100

(三) 乳酸-苯酚法 101

二、永久性整体制片法 102

三、整体制片实例(水蚤的整体制片) 102

第二节 涂布法 103

第三节 压碎法 105

第四节 伸展法 107

第五节 磨片法 108

第五章 活体染色 110

第一节 活体染色的定义及分类 110

第二节 活体染色技术 111

第三节 活体染色的机制 113

第二编 显微镜术及显微摄影术 117

第六章 显微镜 117

第一节 普通显微镜 117

一、显微镜的组成 117

二、几种重要的部件 119

(一) 物镜 119

(二) 目镜 122

(三) 聚光器 123

三、显微镜操作中几种重要的调节方法	123
(一) 光路合轴调节	123
(二) 聚光器的调中	124
(三) 光阑的调节	124
第二节 相差显微镜	124
一、相差显微镜的用途	124
二、原理	124
三、主要构造	127
(一) 环状光阑	127
(二) 相板	128
(三) 合轴调中望远镜	129
(四) 滤色片	129
(五) 相差显微镜的光路图	129
四、操作	131
五、注意事项	131
(一) 相差物镜的选择	131
(二) 盖玻片和载玻片	131
(三) 染色	132
第七章 显微镜附件的使用	133
第一节 显微镜量尺的使用	133
一、微量尺的种类	133
(一) 镜台测微计	133
(二) 目镜测微计	133
(三) 镜台标本移动器的游标尺	135
(四) 微调焦轮上的标尺	136

二、测量方法	136
(一) 注意事项	136
(二) 长度测量	136
(三) 厚度测量	137
(四) 数量计算	138
第二节 描绘器的使用	139
一、OLYMPUS BH2-D1A型描绘器	139
第八章 显微摄影术	141
第一节 显微摄影装置及操作	141
一、显微镜	141
(一) 显微镜的选择	141
(二) 物镜的选择	141
(三) 目镜的选择	142
(四) 物镜与目镜的组合	142
(五) 光阑的使用	142
二、照明装置	144
三、照相装置	144
(一) 海鸥牌ZA显微照相器的使用	144
(二) OLYMPUS BHS 系列显微镜的PM-10AD型照相装置的使用	145
第二节 滤色片的使用	151
一、滤色片的原理	151
二、选用滤色片的原则	153
(一) 黑白摄影中滤色片的选用	153

(二) 彩色摄影中滤色片的选用.....	153
第三节 感光材料.....	156
一、 底片.....	156
(一) 底片的结构和性能.....	156
(二) 底片的种类.....	157
(三) 底片的感光速度.....	158
(四) 底片的反差.....	159
二、 相纸.....	159
(一) 相纸的结构.....	159
(二) 相纸的种类.....	160
(三) 相纸的性能及表示法.....	160
第四节 暗房技术.....	161
一、 曝光过程底片潜影的产生.....	162
二、 显影.....	163
(一) 显影液的组成成分及其作用原理.....	163
(二) 常用显影液的配方.....	164
(三) 显影的操作.....	165
三、 停影.....	167
四、 定影.....	167
(一) 定影液的成分及作用.....	167
(二) 定影液的配方.....	168
(三) 定影过程中的注意事项.....	168
五、 水洗.....	169
六、 晾干.....	169
七、 晒印及放大技术.....	169
(一) 晒印.....	169