

全国医药类专业“十二五”规划教材



医学基础实验指导

主 编 陈晓燕 王亚宁



西安交通大学出版社
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY PRESS

全国医药类专业“十二五”规划教材

医学基础实验指导

主 编 陈晓燕(江西科技学院)

王亚宁(江西科技学院)

副主编 郭海河(江西科技学院)

房春娟(江西科技学院)

王 樑(第四军医大学唐都医院)

编 委 张 妮(江西科技学院)

曾彩红(江西科技学院)

项颖卿(江西科技学院)

洪学军(江西科技学院)

郭亚敏(江西科技学院)

席文娟(江西科技学院)



西安交通大学出版社
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY PRESS

图书在版编目(CIP)数据

医学基础实验指导/陈晓燕等主编. —西安:西安交通大学出版社,2013.8

ISBN 978-7-5605-5610-9

I. ①医… II. ①陈… III. ①基础医学-实验-医学院校-教材 IV. ①R3-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 197198 号

书 名 医学基础实验指导
主 编 陈晓燕 王亚宁
责任编辑 秦金霞

出版发行 西安交通大学出版社
(西安市兴庆南路 10 号 邮政编码 710049)

网 址 <http://www.xjtpress.com>
电 话 (029)82668357 82667874(发行中心)
(029)82668315 82669096(总编办)

传 真 (029)82668280
印 刷 陕西宝石兰印务有限责任公司

开 本 787mm×1092mm 1/16 印张 12.5 字数 300 千字

版次印次 2013 年 8 月第 1 版 2013 年 8 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-5605-5610-9/R·340

定 价 30.00 元

读者购书、书店添货、如发现印装质量问题,请与本社发行中心联系、调换。

订购热线:(029)82665248 (029)82665249

投稿热线:(029)82668502

读者信箱:xjtpress@163.com

版权所有 侵权必究

前 言

熟练的护理技术及专业的基础知识是护士做好护理工作,满足患者需要的重要条件。然而只有扎实的专业基础知识才能掌握娴熟的护理技术,才能深刻理解护理技术操作的原理、目的,才能达到操作规范,手法熟练、准确,有效减轻患者痛苦。为此,我们编写了《医学基础实验指导》一书。本教材针对护理专业,较全面地体现了医学基础课程的基本理论与知识,主要以实验方式,通过标本观察、实验操作及实验结果的分析等实践过程,培养学生理论联系实际的动手能力、评判性思维的能力、解决问题的能力、人文关怀的能力以及职业道德。本书可供中职护理、高职护理、涉外护理等专业作为实验教材使用,亦可满足临床基础实验之需。学校在使用时,可根据教学的实际情况进行补充和删减。

本指导共分为七章:第一章为组织学与胚胎学,实验内容共 16 项,主要以显微镜观察组织切片,研究细胞、组织、器官和组成系统。第二章为人体解剖学,实验内容共 15 项,主要研究正常人体形态和构造。第三章为生理学,实验内容共 24 项,主要内容为生理学实验中的基本操作、基本技能和基本理论。第四章为生物化学,实验内容共 12 项,主要研究生物体的化学组成、代谢、营养、酶功能、遗传信息传递等。第五章为病原微生物与免疫学,实验内容共 8 项,主要研究病原微生物致病机制、免疫学与病原学检验和诊断方法。第六章为病理学,实验内容共 11 项,主要研究人体疾病发生的原因、发展规律以及疾病过程中的机体变化。第七章为病理生理学,实验内容共 3 项,主要研究 3 种常见疾病的发生机制。第八章为护用药理学,实验内容共 12 项,主要研究药物与机体相互作用的规律及其机制。

本教材在编写过程中,得到我院领导及同事的大力支持,也得到兄弟院校和医院各位同仁的鼓励和帮助,在此谨致真诚的感谢!

限于编者水平,书中错误和疏漏在所难免,恳切希望使用本教材的师生、护理界同仁谅解并惠正。

陈晓燕

目 录

第一章 组织学与胚胎学	(1)
实验一 光学显微镜的使用	(1)
实验二 石蜡切片制作(HE 染色法)	(3)
实验三 上皮组织切片观察	(7)
实验四 结缔组织	(9)
实验五 软骨与骨	(11)
实验六 血涂片的制备和血细胞的观察	(13)
实验七 肌组织与神经组织	(18)
实验八 神经系统	(20)
实验九 循环系统	(21)
实验十 免疫系统	(22)
实验十一 内分泌系统	(24)
实验十二 消化系统	(25)
实验十三 呼吸系统	(27)
实验十四 泌尿系统	(28)
实验十五 生殖系统	(29)
实验十六 感觉器官	(30)
第二章 人体解剖学	(34)
实验一 骨和骨连结、躯干骨及其连结	(34)
实验二 上肢骨及其连结、下肢骨及其连结	(35)
实验三 颅骨及其连结	(36)
实验四 肌学总论、躯干肌、头颈肌	(37)
实验五 上肢肌、下肢肌	(38)
实验六 消化系统、呼吸系统	(40)
实验七 胸膜、纵隔、泌尿系统、生殖系统	(42)
实验八 乳房、腹膜、会阴、内分泌系统	(43)
实验九 心标本观察	(44)
实验十 肺循环的动脉、头颈部与上肢动脉	(45)
实验十一 胸腹盆部、下肢的动静脉和淋巴系统	(46)
实验十二 视器、前庭蜗器、脊髓、脑干	(47)
实验十三 小脑、间脑、端脑	(50)
实验十四 脑和脊髓的被膜与血管	(51)

实验十五 脑神经、脊神经、内脏神经	(51)
第三章 生理学	(54)
实验一 制备坐骨神经腓肠肌标本	(54)
实验二 不同刺激强度和频率对骨骼肌收缩的影响	(56)
实验三 神经干动作电位及其传导速度的测定	(57)
实验四 神经兴奋性不应期的测定	(59)
实验五 刺激强度-时间曲线	(60)
实验六 ABO 血型鉴定	(61)
实验七 出血时间和凝血时间的测定	(63)
实验八 血液凝固及影响血液凝固的因素	(63)
实验九 蛙心起搏点	(65)
实验十 蛙心期前收缩和代偿间歇	(66)
实验十一 某些因素对离体蟾蜍心脏的影响	(67)
实验十二 人体心音听诊	(70)
实验十三 人体动脉血压的测定	(71)
实验十四 减压神经放电	(73)
实验十五 心血管活动的神经和体液调节	(75)
实验十六 胸内压的测量和气胸的观察	(77)
实验十七 呼吸运动的调节	(79)
实验十八 消化道平滑肌的生理特性	(80)
实验十九 影响尿生成的因素	(82)
实验二十 视敏度测定	(83)
实验二十一 视野测定	(84)
实验二十二 盲点测试	(85)
实验二十三 视觉调节反射和瞳孔对光反射	(86)
实验二十四 声音的传导途径	(87)
第四章 生物化学	(89)
生物化学实验概论	(89)
实验一 分光光度计的使用	(104)
实验二 影响酶促反应的因素	(106)
实验三 蛋白质的两性性质和酪蛋白等电点的测定	(109)
实验四 紫外线测定蛋白质的浓度吸收法	(110)
实验五 血清蛋白质聚丙烯酰胺凝胶电泳	(112)
实验六 碱性磷酸酶米氏常数的测定	(115)
实验七 葡萄糖氧化酶法测定血糖浓度	(118)
实验八 肝脏中酮体生成的作用	(120)
实验九 改良 Mohun 法测定血清谷丙转氨酶活性	(122)

实验十	血清尿素氮测定	(124)
实验十一	血浆 CO ₂ 结合力测定	(125)
实验十二	琼脂糖凝胶电泳技术——DNA 样品检测	(126)
第五章	病原微生物与免疫学	(129)
实验一	显微镜油镜的使用、保护及常用仪器介绍	(129)
实验二	基础培养基的制备	(132)
实验三	细菌的人工培养	(133)
实验四	细菌涂片制备及革兰氏染色法	(137)
实验五	细菌的生化反应	(138)
实验六	外界因素对细菌的影响	(141)
实验七	间接凝集抑制试验——妊娠试验	(143)
实验八	人体寄生虫形态学	(144)
第六章	病理学	(146)
	病理学实验绪论	(146)
实验一	组织的损伤与修复	(147)
实验二	局部血液循环障碍	(149)
实验三	炎症	(151)
实验四	肿瘤	(153)
实验五	心血管系统疾病	(155)
实验六	呼吸系统疾病	(157)
实验七	消化系统疾病	(158)
实验八	泌尿系统疾病	(160)
实验九	女性生殖系统疾病	(162)
实验十	甲状腺疾病	(163)
实验十一	传染病	(164)
第七章	病理生理学	(168)
	实验须知	(168)
实验一	肺水肿	(169)
实验二	失血性休克	(170)
实验三	缺氧	(171)
第八章	护用药理学	(174)
实验一	实验动物的捉持和给药方法	(174)
实验二	不同给药途径、剂量对药物作用的影响	(180)
实验三	药物的相互作用	(182)
实验四	传出神经药对兔瞳孔的影响	(183)

实验五 水合氯醛的全身麻醉实验..... (185)

实验六 呋塞米的利尿作用..... (186)

实验七 枸橼酸钠的抗凝作用..... (187)

实验八 氯丙嗪对小白鼠激怒反应的影响..... (188)

实验九 普萘洛尔的抗心律失常作用..... (189)

实验十 夹竹桃对离体蟾蜍心脏的作用..... (190)

实验十一 糖皮质激素的抗炎作用..... (191)

实验十二 烟碱的毒性作用..... (192)

第一章 组织学与胚胎学

实验一 光学显微镜的使用

【实验目的】

- (1) 熟练掌握显微镜的使用。
- (2) 学会绘制细胞在显微镜下的形态。
- (3) 熟悉显微镜的构造。

【实验原理】

光学显微镜是利用光学原理,把人眼所不能分辨的微小物体放大成像,以供人们提取微细结构信息的光学仪器,是我们组织学常用的观察技术。

【实验器材及试剂】

显微镜、组织切片(HE 染色)。

【实验内容】

1. 光学显微镜的构造

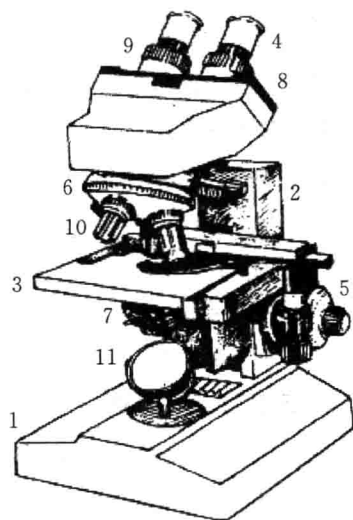
目前实验室使用的是凤凰双目电光源显微镜。显微镜的构造(图 1)是由机械部分和光学部分组成。

(1) 机械部分

- ① 底盘:也称镜座。
- ② 镜架:也称镜臂。
- ③ 载物台:是放置切片标本的部位。其中央有通光孔,台上有切片夹及标本移动旋钮,可以沿着前后左右方向移动标本便于观察。
- ④ 镜筒:上端装有目镜。
- ⑤ 粗螺旋与细螺旋:用于升降载物台以调节焦距。
- ⑥ 物镜转换器:用于转换物镜,接于镜筒下端,其上装有 3~4 个不同放大倍数的物镜。

(2) 光学部分

- ① 光源:为电光源,在镜座上。
- ② 聚光器及孔径光阑:聚光器在光源与载物台之间,其一侧有升降螺旋,可使聚光器上下移动以调节视野亮度。
- ③ 目镜:常用为 10×或 16×,内含指针。



1. 镜座 2. 镜臂 3. 载物台 4. 目镜
5. 粗、细螺旋 6. 物镜转换器
7. 采光器及孔径光阑 8. 目镜筒滑板
9. 视度调节环 10. 物镜 11. 光源

图 1 显微镜的构造

目镜筒滑板:可调节目镜间距离,以得到合适的瞳孔间距,使双眼的视野重合。

瞳孔间距刻尺:标记瞳孔间距。

视度调节环:可调节两眼屈光度。

④物镜

低倍镜:标有 $10\times$ 的字样,黄色环,常用。

高倍镜:标有 $40\times$ 的字样,绿色环,常用。

油镜:标有 $100\times$ 的字样,蓝色环,不常用。

2. 显微镜的使用方法

(1)取出显微镜:一手握住镜臂,一手托住镜座,从柜里轻轻取出,置于实验台上。

(2)使用前准备:揭下防尘罩,放入抽屉内。插上电源,打开开关。

(3)对光:用物镜转换器将 $10\times$ 物镜对准聚光器中心,再用手拉动目镜筒滑板,使双眼视野重合在一起。

(4)放置标本:将所要观察的标本由切片盒内取出,先肉眼观察标本组织的外形、大小、颜色及盖片有无破损,然后将盖片朝上把切片平放于载物台上,用切片夹固定好。调整切片位置使其标本对准聚光器中心,以便进行观察。

(5)低倍镜观察:用粗螺旋使低倍镜头与标本相距 0.5cm 左右,向下移动载物台,直到视野内图像清晰为止。低倍镜主要用于观察组织、器官的基本结构的全貌。

(6)高倍镜观察:首先在低倍镜下把要观察的部分移至视野中央,然后用物镜转换器转换 $40\times$ 镜头,再用细螺旋调节。

(7)观察后的处理:取下切片,下移载物台,关闭电源开关。整理好导线,罩上防尘罩,手托住镜座,轻轻把显微镜放回柜内。

3. 熟悉显微镜的使用

练习用显微镜观察组织切片中的细胞,并学会绘制细胞的结构形态。

【注意事项】

1. 正确安装的问题

使用显微镜前,首先要将显微镜的目镜和物镜安装上去。目镜的安装极为简单,主要的问题在于物镜的安装,由于物镜镜头较贵重,万一安装时螺纹没合好,易摔到地上,造成镜头损坏,所以,为了保险起见,强调学生安装物镜时用左手食指和中指托住物镜,然后用右手将物镜装上去,这样即使没安装好,也不会摔到地上。

2. 正确对光的问题

对光是使用显微镜时很重要的一步,有些学生在对光时,随便转一个物镜对着通光孔,而不是按要求一定用低倍镜对光。转动反光镜时喜欢用一只手,往往将反光镜扳了下来。所以,教师在指导学生时,一定要强调用低倍镜对光,当光线较强时用光圈、平面镜,而光线较弱时用大光圈、凹面镜,反光镜要用双手转动,当看到均匀光亮的圆形视野为止。光对好后不要随便的移动显微镜,以免光线不能准确的通过反光镜进入通光孔。

3. 正确使用准焦螺旋的问题

使用准焦螺旋调节焦距,找到物象,可以说是显微镜使用中最重要的一步,也是学生感觉

最为困难的一步。学生在操作中极易出现以下错误：一是在高倍镜下直接调焦；二是不管镜筒上升或下降，眼睛始终在目镜中看视野；三是不了解物距的临界值，物距调到 2~3cm 时还在往上调，而且转动准焦螺旋的速度很快。前两种错误结果往往造成物镜镜头接触到装片，损伤装片或镜头，而第三种错误则是学生使用显微镜时最常见的一种现象。针对以上错误，教师一定要向学生强调，调节焦距一定要在低倍镜下调，先转动粗准焦螺旋，使镜筒慢慢下降，物镜靠近载玻片，但注意不要让物镜碰到载玻片，在这个过程中眼睛要从侧面看物镜，然后用左眼朝目镜内注视，并慢慢反向调节粗准焦螺旋，使镜筒缓缓上升，直到看到物像为止，同时向学生说明一般显微镜的物距在 1cm 左右，所以如果物距已远远超过 1cm，但仍未看到物象，那可能是标本未在视野内或转动粗准焦螺旋过快，此时应调整装片位置，然后再重复上述步骤。当视野中出现模糊的物象时，就要换用细准焦螺旋调节，只有这样，才能缩小寻找范围，提高找到物象的速度。

4. 物镜转换的问题

使用低倍镜后换用高倍镜，学生往往喜欢用手指直接推转物镜，认为这样比较省力，但这样容易使物镜的光轴发生偏斜，原因是转换器的材料质地较软，精度较高，螺纹受力不均匀很容易松脱。一旦螺纹破坏，整个转换器就会损坏。教师应指导学生手握转换器的下层扳转换物镜。

5. 光学玻璃清洗的问题

光学玻璃用于仪器的镜头、棱镜、镜片等。在制造和使用中容易沾上油污、水湿性污物、指纹等，影响成像及透光率。清洗光学玻璃，应根据污垢的特点、不同结构，选用不同的清洗剂，使用不同的清洗工具，选用不同的清洗方法。清洗镀有增透膜的镜头，如照相机、幻灯机、显微镜的镜头，可用 20% 左右的酒精和 80% 左右的乙醚配置清洗剂进行清洗。清洗时应用软毛刷或棉球沾有少量清洗剂，从镜头中心向外做圆运动。切忌把这类镜头浸泡在清洗剂中清洗，清洗镜头时不要用力擦拭，否则会损伤增透膜，损坏镜头。

清洗棱镜、平面镜的方法，可依照清洗镜头的方法进行。

使用上述清洗剂也能清洗光学玻璃上的油脂性雾、水湿性雾和油水混合性雾，其清洗方法和清洗镜头的方法相似。

光学玻璃表面发霉，是一种常见现象。当光学玻璃生霉后，光线在其表面发生散射，使成像模糊不清，严重者将使仪器损坏。光学玻璃生霉的原因多是因其表面附有微生物孢子，在温度、湿度适宜，又有所需“营养物”时，便会快速生长，形成霉斑。对光学玻璃做好防霉防污尤为重要，一旦产生霉斑应立即清洗。

【思考题】

普通光学显微镜由哪两部分组成？使用时应注意哪些事项？

实验二 石蜡切片制作(HE 染色法)

【实验目的】

- (1) 熟练掌握石蜡切片技术。
- (2) 熟悉 HE 染色的原理。
- (3) 熟悉 HE 染色法染色。

【实验原理】

石蜡切片是最基本的切片技术,冰冻切片和超薄切片等都是在石蜡切片基础上发展起来的。苏木素与伊红对比染色法(简称 HE 对染法)是组织切片最常用的染色方法。这种方法适用范围广泛,对组织细胞的各种成分都可着色,便于全面观察组织构造,而且适用于各种固定液固定的材料,染色后不易褪色可长期保存。经过 HE 染色,细胞核被苏木素染成蓝紫色,细胞质被伊红染色呈粉红色。

【实验器材及试剂】

1. 器材

切片刀、切片机、恒温箱、蜡杯、酒精灯、解剖刀、解剖剪、解剖盘、培养皿、镊子、单面刀片、毛笔、包埋盒、染色缸、盖玻片、载玻片、玻片盘、树胶、树胶瓶、显微镜、温度计、脸盆、水浴锅、剪刀、解剖针、小台木、烧杯、水盆、熔蜡炉。

2. 试剂

中性福尔马林固定液、各种浓度的酒精、二甲苯、石蜡、蜂蜡、苏木精染液、1%伊红酒精溶液、1%盐酸酒精溶液、甘油蛋白粘片剂、中性树胶。

卡诺(Carnoy)固定液、埃利希苏木精染液、各级酒精(30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100%)。

3. 材料

鼠肝、肾、心肌、骨骼肌或其他组织,大豆或小麦、绿豆,洋葱,大蒜,蚕豆的根、茎、叶等。

【实验内容】

1. 取材

颈椎脱臼法处死小鼠,打开腹腔,剪取肝组织(或其他组织)。切取的组织块不宜太大,以利于固定剂穿透,通常以 $5\text{mm} \times 5\text{mm} \times 2\text{mm}$ 或 $10\text{mm} \times 10\text{mm} \times 2\text{mm}$ 为宜。取下所需要的肝组织,切成一小块(2~3mm 厚)。

注意事项:

- (1)取材动作要迅速,不宜做太久的拖延,以免组织细胞的成分、结构等发生变化。
- (2)切片材料应根据需要观察的部位进行选择,尽可能不要损伤所需要的部分。

2. 固定

将切好的肝组织用生理盐水组织洗一下,立即投入中性福尔马林固定液中固定,固定 30~50min。

注意事项:

(1)一般固定液都以新配为好,配好后应贮存在阴凉处,不宜放在日光下,以免引起化学变化,失去固定作用。

(2)有些混合固定液的成分之间会发生氧化还原作用,一定要在使用前才混合,如果混合太早,固定时就没有作用了。

(3)固定材料时,固定液必须充足,一般为材料块的 20~30 倍,有些水分多的材料,中间应更换 1~2 次新液。

(4)材料固定完毕后,保存于严密紧塞或加盖的容器里,同时在容器外贴上标签,并随同材

料在溶液中投入相应的标签,以免相互混淆。标签上注明固定液、材料来源、日期等。标签上的文字应用黑色铅笔或绘图黑墨水书写。

3. 洗涤

材料经固定后,流水冲洗数小时或过夜。

4. 脱水

材料依次经 70%、80%、90% 各级乙醇溶液脱水,各 30min,再放入 95% 和 100% 各 2 次,每次 20min。

注意事项:

- (1)脱水必须在有盖的玻璃品中进行,以防止吸收空气中的水分。
- (2)在更换高一级的脱水剂时,最好不要移动材料以免损坏,可用吸管吸出器皿中的脱水剂,再用吸水器吸尽器皿内剩余液,然后于皿中加入高级脱水剂。
- (3)在低浓度酒精中,每级停留不宜太长,否则易使组织变软,助长材料的解体。
- (4)在高浓度或纯酒精中,每级停留的时间也不宜太长,否则会使组织变脆,影响切片。
- (5)如需过夜,应停留在 70% 酒精中。
- (6)脱水必须彻底,否则不易透明,甚至使透明剂内出现白色混浊现象。

5. 透明

纯酒精、二甲苯等量混合液 15min,二甲苯 I 15min、二甲苯 II 15min(至透明为止)。

由于乙醇与石蜡不相溶,而二甲苯既能溶于乙醇又能溶于石蜡,所以脱水后还要经过二甲苯过渡。当组织中全部被二甲苯占有时,光线可以透过,组织呈现出不同程度的透明状态。

注意事项:

- (1)使用透明剂时,要随时盖紧盖子,以免空气中的水分进入。
- (2)更换每级透明剂,动作要迅速,一方面为了不使材料块干涸,另一方面能避免吸收湿气。
- (3)在透明过程中,如果材料周围出现白色雾状,说明材料中的水未被脱净,应退回纯酒精中重新脱水,然后再透明。

6. 透蜡

放入二甲苯和石蜡各半的混合液 15min,再放入石蜡 I、石蜡 II 透蜡各 50~60min。

透蜡的目的是除去组织中的透明剂(如二甲苯等),使石蜡渗透到组织内部达到饱和程度以便包埋。透蜡时间根据组织大小而定。透蜡应在恒温箱内进行,并保持箱内温度在 55℃~60℃ 左右,注意温度不要过高,以免组织发脆。一般置于恒温箱 0.5h。

注意事项:

- (1)尽量保持在较低温度中进行,以石蜡不凝固为度。
- (2)透蜡温度要恒定,不可忽高忽低。
- (3)操作要迅速,力求在最短的时间内完成石蜡透入过程,以免引起组织变硬、变脆、收缩等。

7. 包埋

包埋时,用镊子夹取石蜡模子(金属质地)在酒精灯上稍加热,放在平的桌面上,从温箱中取出盛放纯石蜡的蜡杯,倒入少许石蜡。再将镊子在酒精灯上稍加热,夹取材料将切面朝下放入蜡模中,排列整齐。再放上包埋盒,轻轻倒入熔蜡。

8. 切片

(1)将已固定和修好的石蜡块装在切片机的夹物台上。

(2)将切片刀固定在刀夹上,刀口向上。

(3)摇动推动螺旋,使石蜡块与刀口贴近,但不可超过刀口。

(4)调整石蜡块与刀口之间的角度与位置,刀片与石蜡切片约成 15° 左右。

(5)调整厚度调节器到所需的切片厚度,一般为 $4\sim 10\mu\text{m}$ 。

(6)一切调整好后可以开始切片。此时右手摇动转轮,让蜡块切成蜡带,左手持毛笔将蜡带提起,摇转速度不可太急,通常以 $40\sim 50\text{r/min}$ 。

(7)切成的蜡带到 $20\sim 30\text{cm}$ 长时,右手用另一支毛笔轻轻将蜡带挑起,以免卷曲,并牵引起带,平放在蜡带盒上,靠刀面的一面较光滑,朝下,较皱的一面朝上。

(8)用单面刀片切取蜡片一小段,放在载玻片上加水一滴,置于放大镜或显微镜下观察切片是否良好。

(9)切片工作结束后,应将切片刀取下用氯仿擦去刀上沾着的石蜡,把切片机擦拭干净妥为保存。

9. 展片、贴片

打开水浴锅,使水温维持在 $40^{\circ}\text{C}\sim 45^{\circ}\text{C}$,另准备 30% 乙醇溶液。

(1)切片时,将一碗 30% 乙醇溶液放于切片机旁的桌面上。

(2)用小镊子夹取预先用刀片割开的蜡带,放在乙醇溶液的水面上,使切片展开。

(3)小镊子轻轻地将连在一起的切片分开,用一个载玻片将切片完整,已展开的切片捞至温水中,使之充分展开。

(4)另取洁净的载玻片,捞起展开的切片,使其位于切片 $1/3$ 处,另一端(磨边,粗糙的一端)磨面上标记或贴上标签,放于切片架上。

10. 脱蜡复水

将水浴锅温度调至 60°C ,待水温控制在 60°C 时,将切片连同切片架放入一干燥的染色缸内,放入水浴锅中,盖上盖子(可密封), 30min 至蜡熔化。之后,石蜡切片经二甲苯I、二甲苯II脱蜡各 5min ,然后放入 100% 、 95% 、 90% 、 80% 、 70% 各级酒精溶液中各 $3\sim 5\text{min}$,再放入蒸馏水中 3min 。

11. 染色

切片放入苏木精中染色约 $10\sim 30\text{min}$ 。染色时间应根据染色剂的成熟程度、室温高低适当缩短或延长。室温高时促进染色,染色时间可短些,否则可适当延长时间,冬季室温低时可放入恒温箱中染色。

12. 水洗

用自来水流水冲洗约 15min ,使切片颜色变蓝(或放入碱性水中也可),但要注意流水不能过大,以防切片脱落。

13. 分化

将切片放入 1% 盐酸乙醇液中褪色,约 2s 至数十秒钟。见切片变红,颜色较浅即可。

14. 漂洗

切片再放入自来水流水中使其恢复蓝色。

15. 脱水 I

切片入 50%乙醇、70%乙醇、80%乙醇中各 3~5min。

16. 复染

用 0.5%伊红乙醇液对比染色 1~3min。伊红主要染细胞质,着色浓淡应与苏木精染细胞核的浓淡相配合,如果细胞核染色较浓,细胞质也应浓染,以获得鲜明的对比。反之,如果细胞核染色较浅,细胞质也应淡染。可在伊红乙醇液中滴加数滴冰醋酸助染,促使细胞质着色,并且经乙醇脱水时不易褪色。

17. 脱水 II

将切片放入 95%乙醇中洗去多余的红色,然后放入无水乙醇中 3~5min,最后用吸水纸吸干多余的乙醇。

18. 透明

切片放入二甲苯 I、二甲苯 II 中各 3~5min。二甲苯应尽量保持无水,经常更换,或用纱布包无水硫酸铜放入染色缸内吸收水分。切片如在二甲苯中出现白雾现象,说明脱水未尽,应退回乙醇中重新脱水,否则切片难以镜检。

19. 封藏

切片经二甲苯透明后,使用中性树胶作为封藏剂,树胶可用二甲苯稀释至合适的稠度。

封藏的方法:封片前应根据材料的大小,选用不同规格的盖玻片。材料透明后,在桌上放一张洁净的吸水纸,将含材料的载玻片从二甲苯中取出放在纸上(切片的一面向上),迅速地在切片的中央滴一滴树胶(切忌待二甲苯干燥后再进行),用右手持小镊子轻轻地夹住盖玻片的右侧,稍为倾斜使其左侧与封藏剂接触,然后再缓慢地将盖玻片放下,这样就可以减少或避免产生气泡。如胶液不足,可以用玻棒再滴一滴树胶从盖玻片边缘补足。如胶液过多,可在干燥以后用刀刮去,并用纱布蘸二甲苯拭去残留的树胶。

染色结果:细胞核被苏木素染成蓝色,细胞质被伊红染成粉红色。

【注意事项】

(1) 蓝化时入碱性水也可,但用促蓝剂对伊红可能拒染,如果时间来得及,应以流水冲洗使切片显示蓝色为宜,但要注意流水不能过大,以防切片脱落,并随时用显微镜检查见颜色变蓝为止。

(2) 分化是 HE 染色成败的关键,如分化不当会导致染色不匀、或深或浅,得到的切片染色效果差。如果染色适中,可取消此步骤。

【思考题】

(1) 什么是 HE 染色? 简述嗜酸性、嗜碱性、中性的概念。

(2) 简述石蜡切片的操作要点。

实验三 上皮组织切片观察

【实验目的】

(1) 掌握被覆上皮的光镜结构。

(2) 熟练掌握显微镜的使用。

(3)培养显微镜下的观察能力。

【实验原理】

利用 HE 染色的特点对上皮组织细胞形态及结构进行观察。

【实验器材及试剂】

普通光学显微镜、单层扁平上皮表面(肠系膜镀银染色)切片、单层扁平上皮切面(心 HE 染色)切片、单层立方上皮(甲状腺 HE 染色)切片、单层柱状上皮(胆囊 HE 染色)切片、假复层纤毛柱状上皮(气管 HE 染色)切片、复层扁平上皮(食管 HE 染色)切片、变移上皮(膀胱 HE 染色)切片、腺上皮(下颌下腺 HE 染色)切片。

【实验内容】

1. 显微镜的使用

(1)了解构造。

(2)使用方法:取镜→放置→对光→放置标本→调焦距→调节两瞳孔间的距离→观察→(油镜观察)→观察完毕后的处理。

2. 切片观察

(1)单层扁平上皮

①单层扁平上皮表面观察

材料:肠系膜 染色:镀银染色

低倍观察:选一最薄处观察,可见一层多边形细胞。

高倍观察:细胞排列紧密,多边形,边缘呈锯齿状,相邻细胞彼此相嵌。

②单层扁平上皮切面观察

材料:心 染色:HE 染色

肉眼观察:标本中呈浅粉色,一面是心内膜,可见心瓣膜;中间很厚,呈红色为心肌膜;其外是心外膜。

低倍观察:心内膜的表面为一层内皮;心外膜结缔组织的外表面被覆一层间皮。

高倍观察:细胞呈扁梭形,界限不明显。

(2)单层立方上皮

材料:甲状腺 染色:HE 染色

①肉眼观察:表面有薄层粉红色被膜,内部隐约可见许多红色小圆块,为甲状腺滤泡。

②低倍观察:甲状腺实质部分呈大小不等、圆形或多边形滤泡断面,中央为红色均质样物质。

③高倍观察:基膜不明显,滤泡上皮细胞呈立方形或矮柱状。细胞核位于中央,呈圆形,着色较深,可见核仁。

(3)单层柱状上皮

材料:胆囊 染色:HE 染色

①肉眼观察:标本一侧不平,染成紫蓝色的部分是腔面上皮组织,其余部分染成粉红色为胆囊壁的其他结构。

②低倍观察:胆囊腔面有许多皱襞,表面衬以单层柱状上皮。

③高倍观察:细胞排列紧密,界限清。

(4)假复层纤毛柱状上皮

材料:气管

染色:HE 染色

- ①肉眼观察:气管横切面成圆环形,被覆腔面的薄层紫蓝色部分是假复层纤毛柱状上皮。
- ②低倍观察:上皮的表面和基底面很整齐,细胞形态不一,界限不清。胞核位置高低不一致。
- ③高倍观察:4种细胞(柱状上皮、杯状上皮、梭形细胞、锥体形细胞)构成,细胞基底面均附于基膜。

(5)复层扁平上皮

材料:食管

染色:HE 染色

- ①肉眼观察:食管横切面的腔面凹凸不平,呈紫蓝色的部分为复层扁平上皮。
- ②低倍观察:上皮细胞层数多,从深层到表层染色逐渐变浅。
- ③高倍观察:基底层为一层立方形细胞,排列紧密;中间层为数层多边形细胞,核呈圆形,染色深;表层呈扁平形,染色浅。

(6)变移上皮

材料:膀胱

染色:HE 染色

- ①肉眼观察:切片上有两个长条形组织,均为膀胱壁。厚的为收缩状态,薄的为扩张状态。
- ②低倍观察:收缩状态的膀胱上皮不平整,细胞层数较多;扩张状态的膀胱上皮较平整,细胞层数少。
- ③高倍观察:收缩期、扩张期。

(7)腺上皮

材料:下颌下腺

染色:HE 染色

- ①低倍观察:可见许多腺泡大小不等,深浅不一,包括浆液性腺泡、黏液性腺泡和二者共同组成的混合性腺泡。
- ②高倍观察:浆液性腺细胞、黏液性腺细胞。

【注意事项】

- (1)显微镜下观察组织切片的形态应先用低倍镜观察,再用高倍镜观察。
- (2)绘制细胞组织图片时,左眼观察,右眼绘图。

【思考题】

- (1)上皮组织有哪些?切片上如何区分被覆上皮和腺上皮?
- (2)绘出各类被覆上皮的模式图。

实验四 结缔组织

【实验目的】

- (1)掌握结缔组织的一般特点和分类。
- (2)掌握疏松结缔组织各种成分的结构及功能。
- (3)了解致密结缔组织、脂肪组织和网状组织的基本结构。

【实验原理】

根据各种组织 HE 染色及姬姆萨(Giemsa)染色后颜色的特点,观察各种组织细胞的形态特点。