

普通高等教育“十二五”规划教材

医学微观形态学 实验教程

申延琴 主编

李英 邓超 副主编



YIXUE WEIGUAN XINGTAIXUE
SHIYAN JIAOCHENG



化学工业出版社

普通高等教育“十二五”规划教材

医学微观形态学实验教程

申延琴 主 编

李 英 邓 超 副主编



化学工业出版社

· 北 京 ·

本教材从实验教学改革的角度探索相关课程的技能培养、整合及综合实验操作的学习。内容包括绪论、组织学、胚胎学、病理学、微生物学、寄生虫学的基本实验内容；组织学、胚胎学、微生物学、寄生虫学、病理学的常用技术方法、实验新技术介绍、显微镜下图片等。

本教材由江南大学无锡医学院相关教师编写。可供高等医药院校临床、预防、护理、中医、药学、影像等专业使用。

图书在版编目 (CIP) 数据

医学微观形态学实验教程/申延琴主编. —北京: 化学工业出版社, 2015. 2

普通高等教育“十二五”规划教材

ISBN 978-7-122-22472-9

I. ①医… II. ①申… III. ①人体形态学-实验-教材
IV. ①R32-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 287695 号

责任编辑: 赵玉清
责任校对: 边 涛

文字编辑: 何 芳
装帧设计: 关 飞

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)
印 装: 北京云浩印刷有限责任公司

787mm×1092mm 1/16 印张 9 $\frac{3}{4}$ 字数 219 千字 2015 年 3 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 25.00 元

版权所有 违者必究

本书编写人员

主 编 申延琴

副主编 李 英 邓 超

编 者 (以姓氏笔画为序)

邓 超 申延琴 白瑞珍 李 英 徐晓宇

郭 辉 崔 春 程建青 滕丽萍

前 言

医学微观形态学是基于以显微镜下微细结构研究为技术特征并兼顾相关类课程的一组课程,包括组织学、胚胎学、微生物学、寄生虫学、病理学,属于基础医学课程。本教材从实验教学改革的角度探索相关课程的技能培养、整合及综合实验操作的学习。教学内容分为:基础篇,包括绪论、组织学、胚胎学、病理学、微生物学、寄生虫学的基本实验内容;拓展篇,含组织学、微生物学、寄生虫学、病理学的常用技术方法、实验新技术介绍、显微镜下图片等。

本教材本着多个相关学科的理论 and 实验教学相互渗透的教学原则,改变传统单一的验证式教学方式,创造性地将相关课程的实验教学进行总体设计,在保持传统教学方案优势的基础上,探索综合性实验和研究性学习能力培养,拓宽学习视野,培养学生综合能力,鼓励学生在课余时间进行设计性实验和科研实践活动,同时本教材的使用也方便于学生在学习后续相关课程时参考。

近年来,国家级、省级和校级大学生创新训练项目,对学生的课外拓展和创新提供了大的学习平台,综合这些因素,本教材的拓展实验为学生的创新性学习提供了参考和指导。本教材适用于高等医药院校临床、预防、护理、中医、药学、影像等专业。

本书编写分工:第一章李英、程建青;第二章李英、崔春、程建青;第三章程建青、李英、白瑞珍;第四章邓超、徐晓宇、滕丽萍;第五章李英、邓超;第六章邓超、李英;第七章申延琴、崔春。图片提供程建青、郭辉。限于我们的编写能力及经验,教材中疏漏和不妥之处恳请读者多提宝贵意见以便修改和完善。

作者

2014年9月

目 录

基础篇 形态学基础 / 1

第一章 绪论	2	第三章 病理学	55
第一节 医学微观形态学研究方法与实验要求 ...	2	第一节 病理学总论	55
一、研究方法	2	一、细胞、组织的适应、损伤和修复	55
二、实验要求	3	二、局部血液循环障碍	57
第二节 显微镜技术	4	三、炎症	59
一、光学显微镜的使用及细胞一般形态观察 ...	4	四、肿瘤	61
二、电子显微镜技术及细胞一般形态观察	9	第二节 器官与系统疾病	63
第二章 组织学与胚胎学	11	一、心血管系统疾病	63
第一节 基础组织	11	二、呼吸系统疾病	64
一、上皮组织	11	三、消化系统疾病	66
二、结缔组织	13	四、泌尿系统疾病	68
三、软骨和骨	15	五、女性生殖系统和乳腺疾病	69
四、血液	18	六、传染病与寄生虫病	70
五、肌组织	20	第四章 微生物学与寄生虫学	73
六、神经组织	22	第一节 医学微生物学实验	73
第二节 器官与系统	23	一、细菌的形态与结构	73
一、循环系统	23	二、真核微生物细胞的形态观察	77
二、淋巴器官	26	三、微生物的接种与分离技术	78
三、皮肤	28	四、细菌的分布及消毒灭菌	82
四、内分泌系统	29	五、细菌的生理生化	87
五、消化管	31	六、分枝杆菌及其他病原菌的形态观察	90
六、消化腺	35	七、裂性噬菌体的溶解作用、细菌的遗传 变异及致病作用	91
七、呼吸系统	37	八、病毒	94
八、泌尿系统	39	九、病毒学检查方法	97
九、男性生殖系统	41	十、其他微生物	99
十、女性生殖系统	43	第二节 寄生虫学实验	101
第三节 胚胎学	46	一、线虫	101
一、胚胎学总论	46	二、吸虫	103
二、颜面、消化系统和呼吸系统的发生	49	三、绦虫	104
三、泌尿系统和生殖系统的发生	51	四、原虫	105
四、心血管系统的发生	52		

拓展篇 实验技术与方法 / 107

第五章 常用技术	108	五、血管内皮细胞损伤的药效评价	134
一、大鼠心脏灌注固定与取材	108	六、冰醋酸致小鼠实验性腹膜炎模型复制	136
二、苏木精-伊红染色	110	七、四氧嘧啶腹腔注射致小鼠糖尿病模型复制	137
三、人血涂片的制备及血细胞计数	112	第七章 前沿技术	138
四、免疫组织化学技术	116	实验一 斑马鱼脊髓损伤模型建立	138
五、常用培养基配制	118	实验二 斑马鱼脊髓损伤模型中的生物胞素示踪技术	141
第六章 综合实验	120	实验三 小鼠原代胚胎成纤维细胞分离建系	143
一、常见创伤性感染细菌的鉴定	120	实验四 多能干细胞的体内分化能力检测——畸胎瘤形成实验	146
二、肠道致病菌的分离鉴定及免疫学检测	125		
三、工程菌的复苏与生长曲线的测定	130		
四、动物细胞凋亡的双荧光染色与观察	132		
参考文献	149		

基础篇

形态学基础

第一章 绪 论

第一节 医学微观形态学研究方法与实验要求

一、研究方法

医学微观形态学是基于以显微镜下微细结构研究为技术特征并兼顾相关课程的一组课程,包括组织学与胚胎学、病理解剖学、医学微生物学与寄生虫学,属于基础医学课程。光学显微镜下结构称为光镜结构,电子显微镜下结构称为电镜结构或超微结构。根据不同的观察目的,采用不同的技术方法制作标本,即可进行显微镜下观察。

(一) 石蜡切片的制作

1. 固定 从人体或动物体内迅速取厚为 $0.5\sim 1.0\text{cm}^3$ 的组织块,放入固定液固定 $6\sim 24\text{h}$ 。固定液使细胞内的蛋白质凝固以保持组织原来的结构成分,提高细胞内微细结构的折射率以利于观察。

2. 脱水 固定后的组织放在自来水中冲洗,把未与组织结合的多余固定液洗去,然后依次经浓度递增的乙醇,逐步除去组织内的水分。

3. 包埋 把脱水后的组织块用二甲苯除去酒精(此步称透明),再经浸泡 56°C 的石蜡,使其充分渗入组织细胞内,最后包埋成蜡块。

4. 切片 用石蜡切片机切成 $5\sim 10\mu\text{m}$ 厚的蜡片,于温水中使蜡片张开,裱贴于涂粘贴剂的载玻片上,在温箱中烘干。

5. 染色 常用苏木素(Hematoxylin)和伊红(Eosin)染色,简称 HE 染色。

6. 封片 将透明的切片取出,滴上加拿大树胶,然后覆以盖玻片,即可长期保存。

(二) 透射电镜(TEM)超薄切片制备技术

1. 取材 EM 标本取材要求速度快,一般在动物杀死后 1min 内将组织块取下浸入固定液。组织块大小一般不超过 1mm^3 。取材操作应细致,避免任何牵、拉、挤、压造成的损伤。

2. 固定 分预固定和后固定两步。均在 $0\sim 4^\circ\text{C}$ 下进行。预固定常用 $2\%\sim 4\%$ 戊二醛和多聚甲醛固定液,常用 0.1mol/L 磷酸缓冲液配制, $\text{pH } 7.4$ 。后固定用 1% 四氧化锇(OsO_4),常用磷酸缓冲液配制, $\text{pH } 7.4$ 。

3. 脱水 常用各种浓度的乙醇或丙酮彻底脱水。

4. 浸泡 常在脱水后,用丙酮做中间溶剂,溶解包埋剂、浸泡组织,逐渐向组织中引入包埋剂。

5. 包埋 用环氧树脂包埋组织块,借环氧树脂聚合作用,使组织块变得十分坚硬而便于切成超薄片。

6. 切片 用特殊锐利的玻璃刀或金刚钻刀,在超薄切片机上将组织切成 50~60nm 的超薄切片,裱在小铜网上。

7. 染色 用醋酸铀和枸橼酸铅双染色。

8. 观察 染色后的小铜网可放入电镜中观察,观察中拍照,冲洗胶卷,印成照片供学习研究用。

(三) 扫描电镜 (SEM) 标本制备技术

1. 固定 通常采用醛类(主要是戊二醛和多聚甲醛)与四氧化锇双固定,也可用四氧化锇单固定。四氧化锇固定不仅可良好地保存组织细胞结构,而且能增加材料的导电性和二次电子产额,提高扫描电子显微图像的质量。这对高分辨扫描电子显微术是极为重要的。为增强这种效果,可用四氧化锇-单宁酸或是四氧化锇-珠叉二胍等反复处理材料,使其结合更多的重金属锇,这就是导电染色。

2. 干燥 固定后通常采用临界点干燥法。其原理是:适当选择温度和压力,使液体达到临界状态(液态和气相间界面消失),从而避免在干燥过程中由水的表面张力所造成的样品变形。对含水生物材料直接进行临界点干燥时,水的临界温度和压力不能过高(37.4℃, 218Pa)。通常用乙醇或丙酮等使材料脱水,再用一种中间介质,如醋酸戊酯,置换脱水剂,然后在临界点干燥器中用液体或固体二氧化碳、氟利昂 13 以及一氧化二氮等置换剂置换中间介质,进行临界干燥。

3. 喷镀金属 将干燥的样品用导电性好的黏合剂或其他黏合剂粘在金属样品台上,然后放在真空蒸发器中喷镀一层 5~30nm 厚的金属膜,以提高样品的导电性和二次电子产额,改善图像质量,并且防止样品受热和辐射损伤。如果采用离子溅射镀膜机喷镀金属,可获得均匀的细颗粒薄金属镀层,提高扫描电子图像的质量。

二、实验要求

(一) 实习前的准备

1. 实习前复习相关课程的理论知识,了解知识要点,预习相关实验内容,以保证实验课上按计划完成相应的学习内容。学生应准备红蓝铅笔(或彩色铅笔),每人应有实习作业本或绘图纸,个人或小组最好能借阅病理学图谱在实习时参考。

2. 掌握医学微观形态学的形态描述与绘图注字 对实习中所见到的各种材料进行综合、分析、鉴别和比较,并准确简要地加以描述及绘图,绘图的注字要规范准确。通过实习进一步巩固和提高理论知识,培养正确认识事物的科学作风和独立

工作的能力。

（二）切片标本观察

采用普通光学显微镜观察的切片，一般为苏木素-伊红（Hematoxylin-Eosin，简称 HE）染色，细胞核（核内的染色质）呈浅蓝色，胞浆及胶原纤维等染成红色。有时根据不同情况采用特殊染色。切片标本的一般观察原则如下。

1. 肉眼观察 初步了解切片的大概情况，不同组织或器官会有特征性结构，如肺组织看上去呈蜂窝状。

2. 低倍镜观察 在全面细致地观察整个切片之后，选择欲观察的典型结构转换至高倍镜观察。

3. 高倍镜 一般是用来观察局部细胞的一些较细微的结构成分的，使用时一定要先用低倍镜找到要观察的成分，置于视野中心后，再转换高倍镜，不要在高倍镜下直接寻找细胞结构，因为视野小，不易找到，浪费时间。

4. 油镜 一般在观察极小的物质时（如血细胞、微生物等）才使用。

掌握医学微观形态学的实习方法和步骤，即从肉眼到低倍镜再到高倍镜的观察，养成良好的行为习惯，注意操作流程，特别是不要损坏组织切片。

（三）大体标本的观察

实验中观察的大体标本是取自尸体解剖或手术切除的材料，用固定液（通常用 10% 中性福尔马林）封存在标本瓶中的标本。观察大体标本时，首先要辨认是何种器官或组织，并与正常器官进行比较（大小、外形、色泽、质地等），找出病变部位，分析、判断病变性质，并思考其发生、发展和结局。

第二节 显微镜技术

一、光学显微镜的使用及细胞一般形态观察

【目的要求】

1. 熟悉普通光学显微镜的主要结构和基本性能。
2. 掌握低倍镜、高倍镜和油镜的正确使用方法。
3. 了解光学显微镜的维护方法。
4. 在普通光学显微镜下识别相关的形态结构，掌握生物绘图的方法。

【内容与方法】

（一）光学显微镜的构造

显微镜的构造主要分为三个部分：机械部分、照明部分和光学放大部分。对照实物（图 1-1）并结合以下说明认识光学显微镜的各部结构及功能。

1. 机械部分

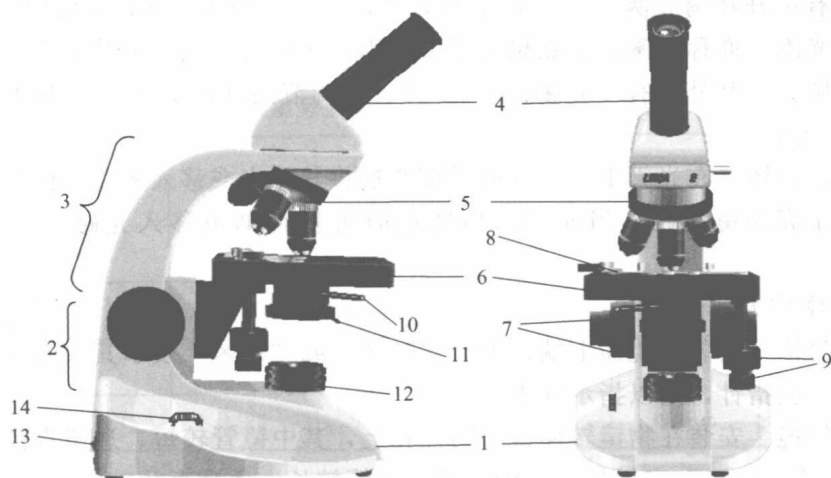


图 1-1 光学显微镜
图注见正文介绍

(1) 镜座 1 在镜的底部，是显微镜的基座，通常为马蹄形或方形，以稳定和支撑整个镜体。

(2) 镜柱 2 自镜座向上直立的短柱，用以支持镜臂。

(3) 镜臂 3

① 斜筒式：以略大于 90° 的倾角与镜柱相连成一体。

② 直筒式：连接在镜柱上面的弓形部分，支持镜筒等部分，拿镜时握持此臂。其下以关节与镜柱相连，此关节称为倾斜关节（斜筒式无此关节），可使镜体作 90° 角内倾斜，便于观察。使用时只应倾斜 45° 以内，以免失去重心而使显微镜翻倒落地。

(4) 镜筒 4 连在镜臂前方的圆筒。分直筒与斜筒两种。上端装有目镜，下端装有物镜转换器。

(5) 物镜转换器 5 装置在镜筒下端的圆盘，有 3~4 个物镜孔，可安装不同放大率的物镜，旋转此盘可以调换物镜头，其边缘有一固定卡，当物镜与镜台中央的圆孔对准时可听到固定卡发出吻合的“咔嗒”声，并产生一到位的阻力感。

(6) 镜台 6 物镜转换器下方的方形平台，用以放置玻片标本，中央有一圆形镜孔，台上附用以夹紧玻片标本的标本夹 8，并可通过下方横向、纵向移动手轮 9 来调节标本的位置。

(7) 调焦装置 7 有粗动、微动两种，装在镜柱（或镜臂）上，用以调节物镜和标本之间的距离。旋转粗动调焦手轮时，两者之间距离变化较大。旋转微动调焦手轮时，距离变化缓而不显，变化范围仅 $1\sim 2\text{mm}$ ，只允许在一圈范围之内旋转，特别适合高倍镜及油镜进行调焦的需要。

2. 照明部分

(1) 反光镜 装在镜柱前的圆镜，一面平，一面凹，可灵活转动以反射任何方向的光线入聚光镜。凹面有聚光作用，故实验室中常用凹面取光。本显微镜采用电光源 12。

(2) 聚光器 在镜台之下，用以聚集光线，以增加标本上的照明度，有的显微

镜其外侧有一升降调节柄 10, 可调节其升降, 上升时光线较强, 下降时光线较弱。

(3) 光圈 亦称光阑, 装在聚光器下, 由许多半月形金属薄片组成, 在中心部分形成一圆孔。其外侧有一光阑调节柄 11, 可调节圆孔的大小来控制光量, 如同照相机的光圈。

(4) 辅助镜 在光阑下方, 可通过调节柄将其移出或移入光路。使辅助镜移出光路适宜于高倍镜观察, 当使用低倍物镜时可将辅助镜移入光路, 使视场照明充满。

3. 光学放大部分

(1) 目镜 安装在镜筒上端, 上有“10×”或“16×”表示其放大倍数, 目镜内常装有黑色指针, 用以指示标本。

(2) 物镜 安装在物镜转换器的物镜孔上, 其中镜管较短、透镜直径较大、标有“4×”或“10×”字样的为低倍物镜; 镜管较长、透镜直径较小、标有“40×”字样的为高倍镜; 镜管最长、透镜直径最小、标有“100×”或“Oil”字样的为油镜。

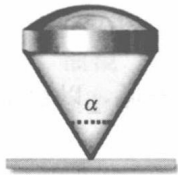


图 1-2 数字
光阑

显微镜的放大倍数等于物镜与目镜放大倍数之积。

4. 概念

(1) 数字光阑 或叫数值孔径 (N. A.), 是影响聚光镜和

物镜成像效率的重要因素。可由公式表示: $N. A. = n \sin \frac{\alpha}{2}$ 。

式中, n 代表物镜镜片和标本/聚光镜之间的介质 (空气、浸油等) 的折射率; α 是光线照射到物镜表面时的入射光间的最大角度。数字光阑越大, 图像越亮, 清晰度越高。见图 1-2、图 1-3。



图 1-3 放大倍数与数值孔径

(2) 分辨率 分辨率是指光学系统辨别微小间距的离散物体能力 (人眼的分辨率为 0.2mm/250mm; 光学显微镜分辨率为 0.2μm; 电子显微镜分辨率为 0.2nm)。间距越小, 光学系统的分辨率越高。分辨率与数字光阑相关, 可以用公式表示: 分辨率 = $0.5\lambda / N. A.$ 。式中, λ 是指光线的波长 [公式中的 $\lambda = 0.55\mu\text{m}$ (可见光波长的平均波长), 0.5 是理想系数, 有的公式采用 0.61 这一更接近实际的系数]。

(3) 工作距离 (W. D.) 工作距离是指标本图像对焦时, 物镜底端和盖玻片表面的距离。通常而言, 物镜放大倍数越大, 工作距离越短。

(4) 焦深 焦深为焦点深度的简称, 即在使用显微镜时, 当焦点对准某一物体时, 不仅位于该点平面上的各点都可以看清楚, 而且在此平面的上下一定厚度内也能看得清楚, 这个清楚部分的厚度就是焦深。

(5) 举例 某型号显微镜 10 倍目镜与物镜的组合见表 1-1。

表 1-1 某型号显微镜 10 倍目镜与物镜的组合

物镜放大 倍数	总放大倍数	数字光阑	实际视野 直径	焦深	分辨率	工作距离 (WD)
4×	40×	0.10	4.5mm	63.2 μ m	2.8 μ m	25mm
10×	100×	0.25	1.8mm	10.1 μ m	1.1 μ m	5.6mm
40×	400×	0.65	0.45mm	1.2 μ m	0.4 μ m	0.6mm
100×	1000×	1.25	0.18mm	0.4 μ m	0.2 μ m	0.14mm

(二) 光学显微镜的使用

1. 低倍镜的用法

(1) 取镜 拿显微镜时应右手紧握镜臂，左手托住镜座，小心轻放。

(2) 准备 将显微镜放在自己前面稍左侧，镜筒向胸前，后缘离桌边缘 3～9cm。插好电源线。转动粗调焦手轮使镜筒与镜台距离加大，旋转物镜转换器，使低倍镜头对准镜台中央的圆孔，对准时可听到固定卡发出吻合的“咔嗒”声，手指感到有阻力。使用直筒式镜时可使镜管略倾斜，以便观察。

(3) 对光 打开光圈，上升聚光器，打开电源开关 13，调节亮度旋钮 14 使光线射入镜筒中，用左眼在目镜上观察，同时右眼睁开，以减少视力疲劳，并可用右眼看纸描绘标本图形。直至镜中出现一光线均匀、亮度适中的圆形视野为止（视野中的黑线是因教学需要外加的指针）。

(4) 上片 标本切片置于镜台上，注意有盖玻片的一面朝上（切不可放反，否则低倍镜下可看清，而高倍镜下无法看清切片），右手打开标本夹的弹簧柄，左手食指和中指将玻片贴着镜台移入标本夹中固定，然后通过横向、纵向的移动手轮调节切片的位置，使切片观察部位（一般为染色部位）位于镜孔的中央。

(5) 调节物距 从侧面注视物镜，转动粗调焦手轮，使低倍镜（10×物镜）距标本片 0.3～0.4cm 或在低倍镜下转动粗调焦手轮使镜台上升至最高。然后左眼在目镜上观察，同时转动粗调焦手轮使物镜与镜台距离徐徐加大，直至视野中成像清晰为止，再调节微动调焦手轮以获最佳效果。初学者操作中注意两个要领：一是慢；二是原则上距离只允许调大不许调小。如果物距最适点已过，那就要重复上述操作。当视野中出现清晰的物像后，如物像不在视野中央，可通过移动手轮稍稍移动标本片位置，但须注意标本片与物像移动的方向相反，即显微镜移动物体采用“同向移动”原则，即物像在哪个方向，想将其移动到视野中央就移动到那个方向。如光线强弱不适中，可用光圈或聚光器调节。

齐焦的概念：正常性能良好的显微镜，在切片不变动的情况下，如果在低倍镜下调节至清晰的像出现后，当物镜转至高倍镜时，只需小幅慢慢转动微动调焦手轮即可得到清晰的像，油镜的使用情况类推。（因为当切片不变动的情况下，低倍镜、高倍镜、油镜成像的平面非常接近。）

2. 高倍镜的用法

(1) 使用高倍镜前必须先照上法在低倍镜下找到物像,然后把要放大的部分放在视野中央,并调节至最清楚的程度,在此基础上方可进行下一步。

(2) 从侧面注视物镜,转动物镜转换器,将高倍镜头转到镜台中央对准聚光镜,然后以左眼从目镜观察(如高倍物镜头太长,需重新调节物镜与镜台距离)。如物像不清晰时,可慢慢转动微动调焦手轮(切勿用粗动调焦手轮),转动范围不宜过大,一般不应超过一圈(一般使镜头与标本的距离拉大),这时如光线太暗,可调节聚光器高度或开大光圈以增加亮度。

(3) 需要更换玻片标本时,应先转动物镜转换器将高倍镜头转离,使低倍镜头对准镜台中央孔之后,才能更换玻片。因为下一张片子也是要从低倍镜看起的,同时防止高倍镜头下调焦手轮误操作损伤镜头及切片。

3. 油镜的用法

(1) 用法1 高倍镜观察后将目的物移到视野中心,移开高倍镜头,在所要观察部分的玻片上滴上一滴专用浸油,从侧面观察,将油镜转对标本,使油镜头浸入油中,左眼从目镜观察,微微转动微动调焦手轮(一般不超过半圈)(一般使镜头与标本的距离拉大),直至视野中出现清晰的物像为止。如没看清视野或油镜头离开油滴,须从低倍镜重新看起。

(2) 用法2 从侧面观察,将油镜转对标本,仔细调节粗动调焦手轮使油镜头浸入油中,与玻片几乎接触,但不得压住玻片,左眼从目镜观察,再微微转动粗动调焦手轮,只准使镜头与标本的距离拉大,待视野中出现模糊的物像时,再转动微动调焦手轮调焦手轮(一般使镜头与标本的距离拉大)至视野中成像清晰。如没看清视野或油镜头离开油滴,须按上法重新调节。

油镜用完后,转动物镜转换器将油镜头移出光路,使低倍镜头对准镜台中央的圆孔,然后用擦镜纸或棉签将油镜上的浸油擦去,后用蘸有乙醚的棉签擦拭两次(各用一根棉签)。用擦镜纸或棉签蘸少许二甲苯将玻片标本上的浸油擦干净;玻片标本上无盖片时,只能用蘸有二甲苯的擦镜纸轻轻在上面拖几下。切勿用力擦拭,以免毁坏标本。显微镜使用完毕,将低倍镜移入光路,关小亮度旋钮14,关闭电源开关13,套上防尘罩,放置好显微镜。

(三) 细胞形态观察

1. 肝细胞形态——猪肝细胞(HE染色) 在高倍镜下,肝细胞多边形的轮廓更为分明,细胞质呈颗粒状被染成红色,细胞核内有染有深蓝色的圆形核仁(一个或数个),除核仁外尚有形态不规则的蓝色颗粒,那是染色质,切片中可见血管的断面,内有多数染色鲜红的红细胞。

2. 神经节感觉神经元

① 肉眼观察:脊神经节呈椭圆形。

② 低倍镜观察:脊神经节内有散在成群的大细胞,为神经细胞。找一个有细胞质、细胞核和核仁的神经细胞,放在视野中央,转高倍镜观察。

③ 高倍镜观察:神经细胞圆形或卵圆形,胞膜不明显,核位于中央,核膜明显,染色质少,核仁明显,大而圆。在神经细胞的周围还有一些体积小的被囊细胞,叫卫星细胞。

二、电子显微镜技术及细胞一般形态观察

【目的要求】

1. 了解透射电镜、扫描电镜工作原理和成像。
2. 掌握透射电镜下细胞结构的形态特点。

【内容与方法】

(一) 透射电子显微镜技术

1932 年 Ruska 发明了以电子束为光源的透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM), 电子束的波长要比可见光和紫外光短得多, 并且电子束的波长与发射电子束的电压平方根成反比, 也就是说电压越高波长越短, 目前 TEM 的分辨力可达 0.2nm, 放大倍数最高可达近百万倍。

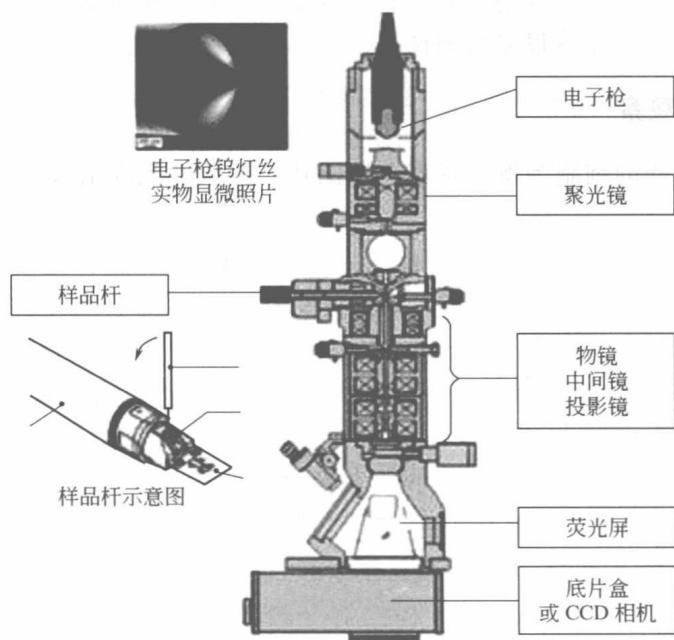


图 1-4 透射电子显微镜的结构组成

电子显微镜主要由四部分组成 (图 1-4), ①电子束照明系统: 包括电子枪、聚光镜。由高频电流加热钨丝发出电子, 经高压使电子加速, 经过聚光镜汇聚成电子束。②成像系统: 包括物镜、中间镜与投影镜等。它们是若干精密加工的中空圆柱体, 里面装置线圈, 通过改变线圈的电流大小, 调节圆柱体空间的磁场强度。电子束经过磁场时发生螺旋式运动, 最终的结果如同光线通过玻璃透镜时一样, 聚焦成像。③真空系统: 用两级真空泵不断抽气, 保持电子枪、镜筒及记录系统内的高真空。④记录系统: 电子成像须通过荧光屏显示用于观察, 或用感光胶片记录下来。

由于电子在空气里穿透力很弱, 所以电镜的镜筒必须抽成真空, 否则高速运动的电子和气体分子相互碰撞, 会使高速电子散射而偏离轨道, 使电镜不能正常工

作。电镜镜筒的真空度越高，其使用性能也就越好。

透射电镜观察不是依据标本颜色分辨结构，而是根据细胞和组织结构染色后对电子散射的程度（或叫电子密度）显示出不同的结构图像。用醋酸铀和枸橼酸铅染色，是重金属沉淀在一定部分上，增加其散射电子的能力，使该部分电子密度增大，因此，图像呈现为深暗色。而电子密度小的结构部分容许大部分电子束透过，因而图像呈现为明亮色，这种电子密度大小的差别叫反差，又叫电子染色。

（二）扫描电子显微镜技术

20 世纪 60 年代，扫描电子显微镜（scanning electron microscope, SEM）逐渐引起人们的重视，其电子枪发射出的电子束被电磁透镜汇聚成极细的电子“探针”，在样品表面进行“扫描”，电子束可激发样品表面放出二次电子，二次电子产生的多少与样品的形状有关。二次电子由探测器收集，并被转化成光信号，再经光电倍增管和放大器转变成电压信号来控制荧光屏上电子束的强度。这样，样品不同部位上产生二次电子多或少的差异，直接反映在荧光屏相应部位亮或暗的差别，从而得到一幅放大的立体感很强的图像。

（三）细胞形态观察

以分泌蛋白质的细胞为例，观察电镜图片，辨认细胞内结构成分。