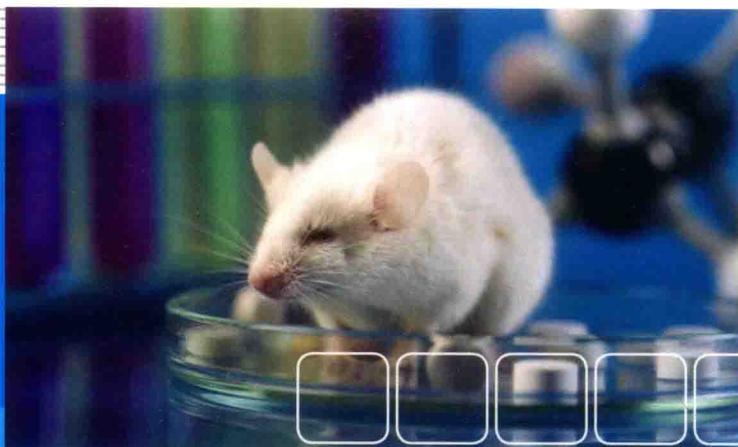


Experiment Instruction
for Basic Medical Sciences

基础医学实验教程

——基础医学“器官-系统”教学实验操作技术

主编 栾希英 金昌洙



北京大学医学出版社

基础医学实验教程

Experiment Instruction for Basic Medical Sciences

——基础医学“器官-系统”教学实验操作技术

主 编 栾希英 金昌洙

副主编 (按姓氏笔画为序)

王巧云 李波清 张洪芹 胡涛 蒋淑君

编 委 (按姓氏笔画排序)

于 宁 (滨州医学院)

马中女 (滨州医学院)

王 华 (滨州医学院)

王巧云 (滨州医学院)

孔丽君 (滨州医学院)

石 磊 (滨州医学院)

刘 巍 (滨州医学院)

刘同慎 (滨州医学院)

刘鲁英 (滨州医学院)

李红星 (滨州医学院)

李波清 (滨州医学院)

李雅娜 (滨州医学院)

宋文刚 (泰山医学院)

张玉梅 (滨州医学院)

张洪芹 (滨州医学院)

陈雪玲 (石河子大学)

金昌洙 (滨州医学院)

胡 涛 (滨州医学院)

柏雪莲 (滨州医学院)

袁文丹 (滨州医学院)

栾希英 (滨州医学院)

曹 璋 (滨州医学院)

蒋淑君 (滨州医学院)

韩艳春 (滨州医学院)

秘 书 李红星

北京大学医学出版社

JICHU YIXUE SHIYAN JIAOCHENG——JICHU YIXUE QIGUAN-XITONG
JIAOXUE SHIYAN CAOZUO JISHU

图书在版编目 (CIP) 数据

基础医学实验教程：基础医学“器官 - 系统”教学实验
操作技术 / 栾希英，金昌洙主编. —北京：北京大学医学出版
社，2017.9

ISBN 978-7-5659-1643-4

I. ①基… II. ①栾… ②金… III. ①基础医学 - 实
验 IV. ①R3-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2017) 第 183277 号

基础医学实验教程——基础医学“器官 - 系统”教学实验操作技术

主 编：栾希英 金昌洙

出版发行：北京大学医学出版社

地 址：(100191) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

电 话：发行部 010-82802230；图书邮购 010-82802495

网 址：<http://www.pumpress.com.cn>

E-mail: booksale@bjmu.edu.cn

印 刷：中煤（北京）印务有限公司

经 销：新华书店

责任编辑：靳新强 责任校对：金彤文 责任印制：李 啸

开 本：787mm × 1092mm 1/16 印张：21.75 字数：502 千字

版 次：2017 年 9 月第 1 版 2017 年 9 月第 1 次印刷

书 号：ISBN 978-7-5659-1643-4

定 价：69.00 元

版权所有，违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

前 言

基础医学实践教学如何培养医学生的职业素养及实践操作能力日显重要，也是我国当前医学教育亟待加强的环节之一。器官-系统整合教学是当今临床医学专业教育改革与发展的趋势，20世纪50年代，美国凯斯西储大学（Case Western Reserve University）率先开展以器官-系统为基础的多学科综合课程（organ-systems-based curriculum, OSBC）改革，继而在世界范围内被广泛推广。我国在2012年开始实施临床医学教育综合改革，其核心是实施卓越医生教育培养计划，重点是坚持“德育为先、能力为重”的理念，强化医学医德素养和临床实践能力的培养，但在基础医学实验教学中这方面的改革尚缺。为此，我们总结了多年器官-系统模块化教学改革经验，组织一线教师依据医学人才培养目标及要求，围绕学生能力培养，打破学科界限，按照器官-系统将基础医学实验教学内容进行整合，编写了《基础医学实验教程》一书，以期在知识的获得上对学生能够实现从“正常-异常、形态-机能”的贯通式培养，为学生后期临床相关课程的学习打好基础。

本书分为三篇，包括基础篇、整合篇及能力拓展篇，共23章。我们将常用的基础医学实验技术整合为基础篇，包括形态学和机能学等常用实验技术，形成第一至第四章的内容，旨在使学生熟记基础医学实验相关知识点及实验操作技能。整合篇中我们以器官系统为模块将相关实验内容按照从正常形态结构到病理形态结构，从正常生理功能到异常生理功能，再到药物干预的思路，将基础医学的实验内容分为11个模块进行有机整合，形成第五至第十五章的内容，旨在培养学生的整体临床思维能力。能力拓展篇中我们以培养学生科研思维能力为主线，按照从细胞接种到动物模型制作及干预治疗，再到科研设计思路培养，将实验内容进行重新设计整合，形成了第十六至第二十三章的内容，旨在培养学生的科研思维模式及科研创新能力。全书根据布鲁姆教育目标分类提出实验目的和要求，在内容安排上充分体现了从形态到功能，从正常到疾病的学习顺序，体现了融知识-能力-素质为一体的人才培养理念，符合当前临床医学人才培养规律和要求，适用于以整合课程为主的八年制和五年制临床医学及相关专业的本科医学生，也可作为研究生和临床医师的参考书。

本教材的编写凝集了滨州医学院、泰山医学院和石河子大学等一线教师的智慧和艰辛，大家精诚协作，乐于奉献的精神令人感动和难忘。本教材获得山东省应用型人才培养特色名校建设工程项目和山东省高等学校教学改革项目（2012376, Z2016Z019）资助，得到了北京大学医学出版社的大力支持。在此一并表示致谢。

基础医学整合实验教材的编写是一次全新的尝试，加之时间仓促和水平所限，本教材在内容和编排顺序上难免有许多遗漏和不当之处，恳请广大师生批评指正，使其日臻完善。

编者

2017年4月于烟台

目 录

基础篇

第一章 形态实验学基本技术	1
第一节 形态实验学制片技术	1
一、组织的取材和固定	1
二、石蜡包埋法	4
三、石蜡切片法	5
四、冰冻切片法	7
五、血液涂片法	8
第二节 形态实验学染色方法	10
一、苏木素 - 伊红染色	10
二、过碘酸 - 雪夫反应	13
三、Feulgen 反应显示 DNA	14
四、钙 - 钴法显示碱性磷酸酶	15
五、脂肪染色	16
第三节 免疫组织 (细胞) 化学技术	18
一、免疫荧光组织 (细胞) 化学技术	18
二、免疫酶组织 (细胞) 化学技术	21
三、亲和免疫组织 (细胞) 化学技术	23
第四节 普通光学显微镜的结构和组织切片的观察方法	24
第五节 病理大体标本的观察方法	27
第二章 病原生物学实验常用技术方法	29
第一节 培养基的制备	29
一、肉汤培养基	29
二、普通琼脂培养基	29
三、血液琼脂培养基	30
第二节 细菌分离培养	31
一、平板培养基接种的分离培养法	31
二、斜面培养基接种的纯培养法	32
三、液体培养基移种技术	33

四、高层培养基穿刺接种法	33
第三节 细菌基本形态和特殊结构	34
第四节 染色方法	35
一、革兰氏染色	35
二、鞭毛染色	37
三、抗酸染色	38
四、细菌荚膜染色法	39
第三章 机能学实验常用基本技能	41
第一节 实验动物的种类与选择	41
一、常用实验动物的生物学特性	41
二、实验动物的选择	42
三、实验动物的保护	43
第二节 实验动物的品系	44
一、按遗传学特性分类	44
二、按微生物特征分类	45
第三节 常用动物实验操作技术	46
一、实验动物的编号、捉拿和固定	46
二、实验动物的给药途径与方法	48
三、实验动物的麻醉方法	50
四、实验动物的取血方法	52
五、实验动物的处死方法	53
六、机能学实验常用的手术操作技术	54
第四节 机能学实验常用仪器及其使用	57
一、换能器	57
二、BL-420 生物机能学实验系统	58
三、动物实验常用手术器械与使用方法	61
第四章 生物化学与分子生物学常用实验技术	64
第一节 血清蛋白醋酸纤维素薄膜电泳及蛋白质的定量分析	64
一、血清蛋白醋酸纤维素薄膜电泳	64
二、蛋白质的定量分析	65
第二节 蛋白质等电点、变性和沉淀反应	67
一、蛋白质等电点测定	67
二、蛋白质的变性与沉淀反应	68
第三节 组织核酸的提取和组分鉴定	70
一、组织核酸的提取	70
二、核酸水解及组分鉴定	71

第四节 酶的特异性、影响酶作用的因素	72
一、酶的特异性	72
二、影响酶作用的因素	73
三、米氏常数的测定	75
第五节 琥珀酸脱氢酶、乳酸脱氢酶及辅酶的作用	77
一、琥珀酸脱氢酶的作用及其抑制	77
二、乳酸脱氢酶及其辅酶的作用	78
第六节 质粒的提取及酶切鉴定	80
第七节 聚合酶链反应技术	82
第八节 克隆化基因在大肠埃希菌中的表达	85

整合篇

第五章 常见病原生物的主要生物学特征	87
第一节 线 虫	87
一、似蚓蛔线虫	87
二、十二指肠钩口线虫和美洲板口线虫	88
三、蠕形住肠线虫	89
四、毛首鞭形线虫	90
五、旋毛形线虫	90
第二节 吸 虫	91
一、华支睾吸虫	91
二、布氏姜片吸虫	92
三、卫氏并殖吸虫	92
四、日本裂体吸虫	93
第三节 绦 虫	94
一、链状带绦虫和肥胖带绦虫	94
二、细粒棘球绦虫	95
第四节 原 虫	96
一、溶组织内阿米巴	96
二、阴道毛滴虫	97
三、蓝氏贾第鞭毛虫	97
四、刚地弓形虫	97
五、间日疟原虫	98
第五节 细 菌	99
一、霍乱弧菌、结核分枝杆菌、葡萄球菌、链球菌、肺炎链球菌、淋病奈瑟菌 的形态特征	99
二、厌氧菌：破伤风梭菌、肉毒梭菌、产气荚膜梭菌	102

三、螺旋体 (Spirochaeta)	104
第六节 真菌和病毒	105
一、致病性真菌	105
二、病毒包涵体	106
第六章 免疫系统功能与相关疾病	108
第一节 免疫器官的观察	108
一、家兔免疫器官的观察	108
二、人淋巴结、胸腺、脾的观察	109
三、人阑尾、回肠集合淋巴小结的观察	111
四、淋巴瘤 (lymphoma).....	112
第二节 多克隆抗体的制备	113
一、抗“O”抗体的制备.....	114
二、抗“H”抗体的制备.....	114
三、兔抗绵羊红细胞抗体 (溶血素) 的制备	115
四、兔抗人血清抗体的制备	115
第三节 抗原 - 抗体的相互检测.....	116
一、凝集反应	116
二、沉淀反应	119
三、免疫标记技术	123
第四节 抗体在补体活化中的作用	127
一、补体溶血实验	127
二、补体杀菌实验	128
第五节 吞噬细胞功能检测	129
一、巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验 (大吞噬)	129
二、中性粒细胞吞噬葡萄球菌实验 (体外法)	130
第六节 T 细胞功能检测 (E- 玫瑰花环形成实验)	131
第七节 外周血单个核细胞的分离	133
第七章 血液系统及相关疾病	135
第一节 血细胞的形态观察	135
第二节 局部血液循环障碍	136
第三节 血液凝固和影响血液凝固的因素	137
第四节 肝素的抗凝血作用	139
第五节 DIC 模型的复制及治疗	141
第八章 心血管调节及心血管系统疾病	144
第一节 动脉及心脏壁的结构	144

第二节	常见心血管系统疾病的形态学特点	146
第三节	蛙心起搏点的观察	147
第四节	期前收缩和代偿间歇	149
第五节	心血管活动的神经体液调节	151
第六节	高钾血症病理模型的复制及治疗	153
第七节	药物的抗心律失常实验	155
第八节	人体动脉血压的测量及运动对血压的影响	156
第九节	传出神经系统药物对血压的影响	159
第十节	急性右心衰竭模型的复制及治疗	161
第十一节	药物对家兔心室内压的影响	163
第九章	呼吸运动调节及呼吸系统疾病	165
第一节	呼吸道	165
第二节	常见呼吸系统疾病形态学特点	166
第三节	呼吸运动的调节	168
第四节	可待因的镇咳作用	169
第十章	消化管功能调节与消化管疾病	171
第一节	消化管的一般结构	171
第二节	胃及小肠的消化功能结构基础	172
第三节	消化管常见疾病的形态学特点	173
第四节	消化管平滑肌的生理特性	175
第五节	胃肠运动的观察	177
第六节	硫酸镁对小鼠的导泻作用	179
第十一章	肝代谢及肝疾病	181
第一节	肝	181
第二节	肝常见疾病的形态学特点	182
第三节	饱食、饥饿对家兔血糖及肝糖原含量的影响	184
第四节	肝脂肪酸 β -氧化	184
第五节	血清谷丙转氨酶的测定及尿素生成测定	186
一、	血清谷丙转氨酶活性测定	186
二、	尿素的生成	187
第六节	血氨升高在肝性脑病发病中的作用	188
第十二章	肾功能与肾疾病	191
第一节	肾	191
第二节	常见肾疾病的形态学特点	192

第三节	运动对尿中乳酸含量的影响	194
第四节	尿淀粉酶活性测定与血清尿素氮的测定	195
一、	Winslow 氏法测定尿淀粉酶的活性	195
二、	血清尿素氮的测定	196
第五节	尿生成的影响因素	197
第六节	呋塞米的利尿作用	198
第七节	家兔急性肾衰竭	201
第八节	正常和肾衰竭家兔酚磺酞药代动力学参数的测定	203
第十三章	神经系统及功能分析	206
第一节	神经元、神经胶质细胞	206
第二节	神经系统常见感染性疾病	207
第三节	不同刺激及药物对骨骼肌收缩的影响	208
一、	骨骼肌收缩的组织结构	208
二、	骨骼肌收缩功能的调节	208
第四节	神经干传导速度的测定	212
第五节	反射弧的分析	214
一、	反射弧的组成	214
二、	反射时的测定与反射弧的分析	215
第六节	敌敌畏中毒对传出神经系统的影响	217
第十四章	内分泌基础及相关疾病	220
第一节	胰腺、甲状腺、肾上腺、垂体	220
第二节	甲状腺常见疾病的形态学特点	222
第三节	胰岛素、肾上腺素对血糖浓度的影响	223
第四节	糖尿病动物模型的复制	225
第五节	胰岛素引起的低血糖反应及解救	226
第十五章	生殖基础及相关疾病	227
第一节	睾丸、卵巢、子宫	227
第二节	早期胚胎观察	230
第三节	生殖系统常见疾病的形态学特点	231

能力拓展篇

第十六章	肿瘤细胞接种实验	233
第一节	肿瘤细胞的接种实验	233
第二节	细胞因子的检测	234

第三节	NK 细胞的活性测定	235
一、	放射性核素的释放法	235
二、	乳酸脱氢酶的释放法	236
第十七章	组织的损伤与修复	238
第一节	骨的结构及骨折的愈合	238
一、	骨与软骨的结构	238
二、	骨折愈合的观察	239
第二节	实验动物皮肤创伤的愈合实验	240
第十八章	不同类型缺氧模型的复制及治疗	242
第一节	几种类型的缺氧	242
第二节	影响缺氧耐受性的因素	244
一、	机体代谢对缺氧耐受性的影响	244
二、	种属、年龄和神经系统功能状况对缺氧耐受性的影响	247
第十九章	失血性休克模型的复制及治疗	249
第一节	正常家兔肠系膜微循环的观察	249
第二节	失血性休克模型的复制	250
第三节	输血及药物对失血性休克的治疗	252
第二十章	缺血再灌注损伤	254
第一节	微循环基础：动物各部位微循环的观察	254
第二节	心脏缺血再灌注损伤模型的复制与治疗	256
第三节	脑缺血再灌注损伤模型的复制与治疗	259
第二十一章	感觉器官及其功能的调节	261
第一节	眼、耳及皮肤的结构	261
第二节	感觉器官功能的检测	264
一、	视敏度的测定	264
二、	视野的测定	265
三、	视觉的调节反射和瞳孔的对光反射	267
四、	声音的传导途径	268
第三节	药物对家兔瞳孔的影响	269
第二十二章	科研设计基本思路及基本知识	271
第一节	生物医学研究概述	271
一、	科学研究的类型	271

二、科学研究的基本程序	272
第二节 生物医学科研选题	273
一、选题原则	273
二、选题方法	274
第三节 科研设计	275
一、科研设计三大要素	275
二、科研设计的原则	276
第四节 实验实施	279
一、预实验	279
二、实验记录	279
第五节 资料整理与统计学处理	280
一、实验资料的类型	280
二、统计方法的选择	280
三、统计结果的解释和表达	280
第六节 论文撰写	281
第二十三章 处方学及药物剂型	284
第一节 处方学	284
一、处方的意义	284
二、处方的颜色	284
三、处方的类型	284
四、处方的内容	285
五、处方的开写规则及注意事项	285
第二节 药物制剂与剂型	286
第三节 药品管理的基本知识	287
一、药典和药品管理法	287
二、处方药与非处方药	287
第四节 特殊药品管理知识	287
一、麻醉药品的管理	287
二、精神药品的管理	288
三、医疗用毒性药品的管理	288
四、放射性药品的管理	288
五、兴奋剂的管理	288
附录 1: 常用溶液的配制	290
一、常用储存液的配制	290
二、磷酸盐缓冲液的配制	291
三、Tris 缓冲液的配制	293

四、枸橼酸盐缓冲液的配制	293
五、Hank's 液的配制	294
六、常用生理溶液的配制	294
附录 2: Tris- 甘氨酸 SDS 聚丙烯酰胺电泳凝胶的配制	296
参考文献	298
彩 图	299

基础篇

第一章 形态实验学基本技术

对机体正常组织或者细胞结构及其在病理状态下形态变化规律的观察研究，都要依赖于传统的组织学和病理学切片染色技术来完成。随着现代技术的发展，组织学和病理学的传统技术与分子生物学、生物化学、免疫学、实验动物学等多学科相互交叉渗透，形成了一系列新的形态学技术和检测方法，如组织芯片技术、免疫组织（细胞）化学技术、荧光原位杂交技术（fluorescence in situ hybridization, FISH）、图像定量分析技术等。致使形态实验学技术的适用研究领域有所拓宽，应用价值也有所提高。

第一节 形态实验学制片技术

形态实验学制片技术是形态实验学的基本技术，根据制片方法可以分为切片法和非切片法。切片法根据支持物的不同，分为石蜡切片法、冰冻切片法、火棉胶切片法等，非切片法根据目标组织的性状可以选择涂片法、铺片法、磨片法、整装片等。这些方法在组织学和病理学实验中均有应用。

一、组织的取材和固定

【实验目的】

陈述固定的概念，熟记组织取材固定的要求，归纳常用的组织固定方法。

【实验原理】

临床手术切除或者实验动物的组织和器官切除后，按照要求切取成一定形状和大小的组织材料，将该材料浸入化学试剂（固定剂）配制的固定液，组织细胞的组成成分和代谢产物（如蛋白质、脂及脂蛋白、脂肪、糖类等）得以沉淀或凝固，防止组织发生自溶和腐败，并在制片过程中不为其他试剂溶解破坏，最终使组织细胞的形态结构和抗原性得以保存，称为固定（fixation）。

【实验对象】

实验动物或人体的组织、器官。

【实验用品】

手术器械（手术刀柄和刀片、镊子、手术剪子、止血钳等）、动物固定器、捆扎用绳、纱布、注射器、称量组织器官的天平、盛放组织的广口瓶、铅笔、记录本等、麻醉

剂、生理盐水、固定液、黄色垃圾袋（存放动物尸体和废弃器官），锐器盒（存放废弃针头、注射器和刀片等）。

【方法与步骤】

取材和固定是形态学实验过程中的两个连续步骤，根据实验目的和要求，可以先进行取材后进行固定，也可以对器官或者动物进行灌注固定后，再取材。下面的方法与步骤主要以动物实验为例。

1. 取材的方法和要求

(1) 组织材料必须新鲜。

(2) 熟悉目标器官的解剖部位，熟练准确地找到并摘取目标器官。

(3) 切取的组织块应包含该脏器的主要组织学结构，如切取的每个肾组织块都应该包含皮质和髓质两个部分；病变组织切取部位必须是主要病变区，并包含病灶与正常组织的交界区，必要时取远离病灶的正常组织作对照。按要求切取后，立即投入固定液进行固定。

注意：在操作过程中，夹持组织避免使用有齿镊，切取组织块用的刀剪要锋利，避免挤压组织。

(4) 留取组织块大小的原则是，在满足实验要求的前提下，力求以小而薄为宜，一般厚为 0.2 ~ 0.3cm。

1) 软的活体组织可以适当加厚，组织经过短时间浸泡固定有所硬化后，再做修切；对于冰冻切片，组织块宜略厚。

2) 微量标本和易碎标本，注意避免遗失或被破损，可以使用预先用固定液浸湿的纱布包裹后浸润固定。

3) 一些柔嫩或薄的组织，如小鼠胃、肠系膜等，可以先平摊于硬纸板或者塑料板上，并用大头针于边缘部位固定，再将组织和硬纸板一起投入到固定剂中固定，组织硬化后再行修切。

4) 神经、肌肉等组织，可用手术线将其两端结扎，并捆绑在木片或硬纸片上固定，可防止产生收缩现象。

5) 对于在固定液中容易上浮的组织，如肺，可缚以重物使其下沉。

6) 组织块上的血液、污物、黏液、食物、粪便等，先用生理盐水冲洗干净，然后再投入固定液固定。

2. 固定

(1) 固定液的配制和选择

由单一化学试剂组成的固定液为单纯固定液，常用的有甲醛或多聚甲醛、乙醇、甲醇、丙酮等；由两种或者两种以上化学试剂组成的固定液称为混合固定液，常用的有乙醇-甲醛液（AF液）、Bouin液、Carnoy液等。各种固定液的性能和作用不尽相同，应该根据实验目的和要求选择合适的固定液。

选择应用原则是：该固定液能够对需要观察的目标组织或细胞成分给予充分固定并且原位保存，无弥散现象；固定液能迅速渗透入组织；被固定组织无显著的收缩和膨胀现象。

(2) 常用的固定方法

1) 浸泡固定法：是将新鲜组织块切取后，立刻投入固定液内进行浸泡，使组织结构得到固定保存。是组织固定最常用的方法之一，应用范围广泛，操作简述如下：

- a. 选择合适容量的广口瓶，以方便标本轻松放取，以免造成组织被人为挤压。
- b. 固定液倒入广口瓶，用量以标本体积的 15 ~ 20 倍为宜。
- c. 按照实验要求切取组织块，投入到固定液，并轻轻震荡，使标本能够于固定液中悬浮，防止漂浮、沉底、贴壁以及组织块间相互重叠而影响固定液的渗透，切忌容器中先放组织块再注入固定液。
- d. 密闭标本瓶，防止固定液挥发而降低固定作用，并避免空气污染。
- e. 容器上贴上标签，并标记实验标本的基本信息，如实验组别、实验动物编号、组织（器官）名称和数量、固定液种类、实验日期等。
- f. 浸泡固定时间，由固定液类型和组织的种类、大小而定，固定持续期间要求更换一次新鲜固定液。

2) 局部灌注固定法

肺气管灌注固定：由于其结构特点，在浸泡固定时会发生漂浮，故浸泡固定效果不佳。肺的固定可以应用从气管或大支气管注入固定液的局部灌注固定法，固定效果较好，应该注意的是，注入固定液的速度要均匀，不宜太快，以免使肺泡结构破裂。

肝、肾的血管灌注固定：

- a. 肝由门静脉注入温生理盐水，同时切断回流的肝静脉排出血液。
 - b. 同样的途径和方式灌注固定液。
 - c. 整体摘取肝，进行浸泡固定，30min 按照取材要求修切。
- 肾由肾动脉和肾静脉进行灌注固定。

3) 全身灌注固定法

以适用于大鼠和小鼠等小动物的心脏灌注为例说明步骤方法。

- a. 在麻醉状态下，打开胸腔，切开心包膜，在升主动脉下穿一手术线。
- b. 选用粗细合适的针头，由心尖通过左心室刺入升主动脉，并用预留手术线结扎固定，同时剪开右心耳放血。
- c. 立刻徐徐注入或滴入温生理盐水，待流出的液体无血液时，再注入固定液，直至动物全身僵硬。
- d. 30min 后进行组织切取，将组织块进行浸泡固定。

较大动物如兔、猫、犬、猴及整个人体，可以选择颈总动脉或股动脉进行全身灌注固定。

3. 固定后冲洗：组织经过固定后，残留在组织内的固定液可能会影响后续的组织制片和染色，因此，经过固定的组织在进入下一步程序之前，应该将组织内的固定液冲洗干净。

冲洗方法：水溶性的固定剂，需用流水冲洗；以乙醇作为溶剂的固定剂，应用同浓度的乙醇浸洗；含苦味酸的固定剂，忌用水冲洗，以防组织膨胀，须用 70% 的乙醇浸洗，以充分去除黄色的苦味酸。

二、石蜡包埋法

【实验目的】

熟记石蜡包埋法的基本原理和操作步骤，实施石蜡包埋技术。

【实验原理】

组织经过取材、固定、水洗程序处理后，进行石蜡包埋，还需要依次进行以下程序处理：脱水（dehydration）、透明（clearing）、浸蜡（infiltration）、包埋（embedding）。石蜡作为组织支持物，不溶于水而易溶于二甲苯、苯、香柏油等透明剂，因此，在浸蜡进行之前，必须使用乙醇、丙酮、正丁醇等脱水剂置换组织内的水分，然后再用透明剂置换出脱水剂，此过程分别为脱水和透明。随后，组织进入熔化状态下的石蜡，将二甲苯等透明剂用石蜡替换，为浸蜡。再将熔化的包埋蜡倒入包埋模具，其内立刻放入完成浸蜡步骤的组织块（切面向下），石蜡冷却凝固成为石蜡包埋组织块，此步骤为包埋。

【实验对象】

经过固定和冲水处理后的人体标本或者实验动物组织。

【实验用品】

组织脱水盒、包埋用镊子、熔蜡箱、包埋模具、酒精灯等；50% ~ 100% 各级浓度乙醇（浓度为50%、70%、85%、95%、100%）、二甲苯、软石蜡、硬石蜡、蜂蜡等。

【方法与步骤】

1. 脱水

（1）脱水原则：最常用的脱水剂是乙醇，一般采用梯度浓度乙醇脱水法，基本原则是，组织从低浓度乙醇开始逐渐过渡到高浓度乙醇。既能够实现组织脱水干净的目的，又可以避免发生组织收缩变脆的缺陷。

（2）一般的脱水顺序是：从50%乙醇开始，依次为70%乙醇→85%乙醇→95%乙醇Ⅰ→95%乙醇Ⅱ→无水乙醇Ⅰ→无水乙醇Ⅱ。

（3）脱水时间：根据组织种类、组织块大小和厚薄而定。一般0.3cm厚的组织块，脱水全过程需要数小时即可；如脱钙骨组织、实质性脏器等的脱水时间宜短；而疏松结缔组织、脂肪组织等，脱水时间则应适当延长，以便溶解掉脂肪；小动物和胚胎组织，应该从30%乙醇开始。

2. 透明

（1）透明剂：二甲苯能与脱水剂乙醇、丙酮相混合，同时又是石蜡的溶剂，为最常用的一种透明剂，其透明能力强，作用迅速。

（2）透明要求和透明时间：在透明过程中，二甲苯对组织有较强的收缩硬化作用，易使组织变硬、变脆，因此，使用二甲苯的透明时间不宜过长，具体时间应该根据室温和组织类型而定：

- 1) 小动物组织材料必须严格控制时间。
- 2) 脑组织和有血块的组织，应该缩短时间。
- 3) 肌肉组织和胃肠组织则应该稍延长透明时间，一般需要半小时至2h。
- 4) 脂肪组织或者含有脂肪较多的组织，因脂肪组织的折光率与透明剂相近，透明