

实用组织学技术

(第二版)

杜卓民主编

人民卫生出版社

实用组织学技术

(第二版)

主编 杜卓民

编者 (以姓氏笔画为序)

卫光辉	王 宜	王瑞绵	白 虹	许 屏
朱秀雄	朱慧菊	刘暖琴	杜卓民	吴良芳
吴竞梅	苏兆绛	谷华运	邹仲之	邹晓菊
陈玉兰	陈爱军	陈庆林	陈佛痴	陈聚梁
张 玲	张端莲	张保真	李仁玉	李秀琼
李淑莲	李建国	李镇国	李光鼎	杨 薇
杨 勇	肖雪媛	周玉琳	周素华	周国民
周敬修	保天然	郝利露	郭锦霞	顾玉娣
高晓勤	聂毓秀	沈彼得	桂志祥	龚 丽
梁 玉	黄 干	黄可欣	熊绪会	谭 为
章蓓燕	靳安庸	薛 同		

人民卫生出版社

图书在版编目(CIP)数据

实用组织学技术/杜卓民主编. —2版. —北京:人民卫生出版社,1998

ISBN 7-117-02861-0

I. 实… I. 杜… III. 人体组织学 IV. R329

中国版本图书馆 CIP 数据核字(97)第 25122 号

实用组织学技术

(第二版)

主编 杜卓民

人民卫生出版社出版发行

(100078 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼)

三河市宏达印刷厂印刷

新华书店经销

850×1168 32 开本 15 $\frac{5}{8}$ 印张 414 千字

1982 年 3 月第 1 版 1998 年 4 月第 2 版第 2 次印刷

印数:7 301 11 300

ISBN 7-117-02861-0/R·2862 定价:23.50 元

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

|| 前 言

本书的第二版现在奉献在您面前,是多蒙各有关兄弟院校同行的赞助和百忙中撰写了稿件,并承人民卫生出版社大力支持才得以出版。当然,众所深知,当前书籍的出版相当困难。对人民卫生出版社在克服重重困难条件下,能将本书的第二版出版发行,使我们都深受感动。

第二版仍本着“实用”的原则和不过多的涉及理论性问题编写。在内容选择方面,除将组织学技术中某些常规或不可少的传统方法保留一部分外,主要是根据近些年的技术发展并通过实践增添了一些较新内容。这些资料仍由富于经验和专长的同行予以介绍。如组织学技术工作中,常因固定、包埋和染色或其它操作过程的耗时所困扰,因而对微波照射的应用范围作了简介。在血液及骨髓方面,结合临床和研究工作,对分离外周血的白细胞,以及造血干细胞的测定和几种祖细胞的体外培养等都作了介绍。对肌肉组织,特别介绍了骨骼肌收缩活动中两种类型及其某些亚型的检测。在生殖系统部分,增添与临床检验结合的精液有关成分检测。对内分泌腺的肾上腺及垂体染色技术方面以及染色体标本制作中对恶性变细胞染色体制备作了补充。又如有关脱落细胞技术,尤其对恶性变细胞的观察与鉴别,以及介绍 Ag-NOR 染色法等,都对肿瘤细胞检查提供了一定的参考。细胞分离技术和细胞形态计量方法是新增的两章,分别对细胞群体分离某一类型细胞的各种检测及涉及体视学对细胞二维与三维立体结构的计算,提供应用的方法实例。基于免疫细胞化学的广泛应用,也专成一章以便参考。在组织化学和其它章节都作了改写和补充某些近年常用的技术方法。

为了节省篇幅,此次原“附录”内大家所熟悉的“溶液浓度计算

法”和“缓冲液配制表”未再列入。后者按其应用范围均分别列入各有关章节内。

最后,很值得高兴的是,在本版内热心参加编写的兄弟院校,已由第一版的五个单位增到十二个单位。这样,对充实内容起到了决定性作用,特此深致谢忱。也应指出,本书内容的安排,限于我们的水平和片面性,仍不免存在缺点或错误,我们热诚欢迎读者批评指正。

杜卓民 谨

1997年9月

目 录

第一章 实验室设备及常用试剂	(1)
一、主要设备	(1)
(一)显微镜	(1)
(二)切片机及其他设备	(4)
二、常用试剂	(6)
第二章 取材及固定	(8)
一、动物的处死	(8)
二、取材与固定	(8)
三、固定剂	(9)
(一)各种试剂的一般性能	(9)
(二)常用的混合固定剂	(11)
四、利用微波照射固定生物标本简介	(18)
第三章 组织固定后的处理与切片	(22)
一、组织固定后的处理	(22)
(一)冲洗或漂洗	(22)
(二)脱水	(22)
(三)透明或媒浸	(23)
(四)二甲氧基丙烷石蜡包埋法	(25)
二、其他各种包埋法与切片法	(27)
第四章 染料、染色与常用染液染色法	(36)
一、染料	(36)
(一)天然染料	(36)
(二)人工合成染料	(37)
二、染色	(42)
(一)活体染色	(42)

(二)固定后染色	(12)
(三)染色时常会遇到的问题及其处理	(15)
三、常用染液染色法	(46)
(一)细胞核的染色	(46)
(二)细胞质常用染料的染色	(56)
(三)脂肪染料	(57)
第五章 细胞器与分裂期染色体	(58)
一、高尔基复合体	(58)
(一)Cajal 铂银法	(58)
(二)Da Fano 铂银法	(59)
(三)Aoyama 铂银法	(60)
(四)Ludford 钨酸法	(60)
二、线粒体	(60)
(一)Regaud 铁矾苏木精法	(60)
(二)Aeidenhain 铁矾苏木精法	(61)
(三)Altmann 苯胺-酸性品红改变法	(62)
(四)Harmond 坚牢绿法	(63)
三、细胞分裂期的中心体与染色体	(64)
(一)取材	(64)
(二)固定与切片	(64)
(三)染色法	(64)
第六章 纤维性结缔组织与细胞	(67)
一、胶原纤维	(67)
(一)Heidenhain“AZAN”三色法	(67)
(二)AZAN 改变法	(68)
(三)Mallory 三色法	(68)
(四)武兆发改良 Mallory 一步三色法	(69)
(五)Masson 染色法(改变法之一)	(69)
(六)Masson 染色法(改变法之二)	(70)
(七)Van Gieson 染色法	(71)
二、弹性纤维	(71)
(一)Schmorl 染色法	(71)
(二)台盼蓝活体染色荧光观察法	(72)

(三)Masson 三色染色法	(72)
(四)Verhoeff 碘-苏木精染色法	(73)
三、网状纤维	(74)
四、巨噬细胞与成纤维细胞	(77)
(一)注射台盼蓝显示法	(78)
(二)天青-伊红-瑞氏染色法	(78)
五、浆细胞	(79)
(一)甲基绿-派洛宁染色法	(79)
(二)天青 A-伊红染色法	(79)
六、肥大细胞	(80)
(一)中性红染色法	(80)
(二)硫堇染色法	(80)
(三)甲基胺蓝染色法	(80)
(四)肥大细胞的腹腔液离心沉淀法	(81)
(五)阿利新蓝-番红法	(81)
(六)肥大细胞颗粒酸性品红染色法	(81)
第七章 软骨和骨	(83)
一、软骨	(83)
(一)透明软骨茜素红-美蓝染色法	(83)
(二)透明软骨的临界电解质浓度法	(84)
(三)PAS 法	(84)
(四)弹性软骨染色法	(84)
(五)纤维软骨染色法	(84)
二、骨	(84)
(一)磨骨	(84)
(二)脱钙骨	(85)
(三)脱钙剂与脱钙	(87)
(四)染色	(89)
(五)电镜超微结构骨组织标本制备法	(89)
(六)骨碱性磷酸酶与磷酸盐显示法	(90)
第八章 血液及骨髓	(92)
一、血液和骨髓涂片法	(92)
(一)血液涂片	(92)

(二)骨髓涂片	(93)
二、涂片染色	(94)
(一)瑞氏染色	(94)
(二)吉姆萨染色	(94)
(三)Wright-Giemsa 染液混合染色	(95)
三、网织红细胞活体染色	(95)
(一)网织红细胞试管染色法	(95)
(二)网织红细胞玻片染色法	(96)
四、骨髓切片常规染色	(96)
(一)制作骨髓切片	(96)
(二)骨髓切片常规染色	(96)
五、血细胞的组织化学反应	(98)
(一)核酸	(98)
(二)多糖	(99)
(三)含铁血黄素	(99)
(四)酶	(100)
六、血细胞酶的细胞化学超微结构观察法	(107)
(一)分离外周血中的白细胞	(107)
(二)分离外周血中的无粒白细胞	(108)
(三)分离外周血内的粒细胞	(109)
(四)分离外周血内的血小板	(110)
(五)血细胞常规电镜细胞化学标本制作	(111)
(六)白细胞过氧化物酶电镜标本制作	(112)
(七)白细胞碱性磷酸酶电镜标本制作柠檬酸铅法	(113)
(八)白细胞酸性磷酸酶电镜标本制作	(113)
七、多能造血干细胞(CFU-S)的测定法	(115)
(一)外源性 CFU-S 测定法	(115)
(二)内源性 CFU-S 测定法	(118)
(三)本实验技术建立的意义	(118)
八、巨核系祖细胞(CFU-Meg)的体外培养	(118)
(一)小鼠巨核系祖细胞的体外培养	(118)
(二)小鼠巨核细胞集落的胆碱酯酶染色法	(120)
(三)人巨核系祖细胞的体外培养	(121)

九、粒-单系祖细胞(CFU-GM)的体外培养	(122)
(一)小鼠粒-单系祖细胞的体外培养	(122)
(二)人粒-单系祖细胞的体外培养	(124)
十、红系造血祖细胞(BFU-E)的体外培养	(124)
(一)实验设备与器材	(125)
(二)准备试剂	(125)
十一、人植物血凝素白细胞条件培养	
液(PHA-LCM)制备	(126)
十二、小鼠美洲商陆脾细胞条件培养	
液(PWN-SCM)制备	(126)
十三、培养步骤和方法	(127)
十四、培养结果	(128)
第九章 肌肉组织	(129)
一、骨骼肌	(129)
(一)Gomori 三色染色一步法	(129)
(二)磷钨酸苏木精快染法	(130)
(三)磷钨酸苏木精慢染法	(131)
(四)骨骼肌组织活检的酶组化法	(132)
(五)Ralis 等(1977)肌纤维染色法	(136)
二、心肌	(136)
三、平滑肌	(137)
第十章 神经组织	(139)
一、Golgi 法显示神经元胞体形态	(139)
二、Golgi-Cox 法显示神经元胞体形态	(142)
三、灌注的快速 Golgi 法	(143)
四、神经元胞体的尼氏体染色法	(144)
(一)硫堇染色法显示尼氏体	(145)
(二)桔花青染色法显示尼氏体	(145)
五、神经元纤维与轴索的银染法	(146)
(一)Holmes 镀银法	(146)
(二)Linder 镀银法(1978)	(147)
(三)Sevier-Munger 改变法	(148)

(四)Cajal 水合氯醛(VI)法	(149)
六、肠肌丛镀银法	(150)
七、氯化金法显示完整的运动终板、肌梭、腱梭和环层小体(Ranvier 改变法)	(150)
(一)氯化金法之一	(150)
(二)氯化金法之二	(151)
八、美蓝活体染色显示周边神经终末结构	(151)
九、髓鞘的染色	(153)
(一)Pal-Weigert 法	(154)
(二)劳克坚牢蓝法	(155)
(三)施-兰氏切迹染色法	(156)
十、溃变纤维显示法	(157)
(一)Marchi 法的 Swank-Davenport 改变法	(157)
(二)Eager 法显示溃变轴索	(157)
(三)Ebbesson-Robinson 双重银法	(158)
十一、神经胶质	(159)
(一)Del Rio-Hortega 碳酸银法显示小胶质细胞(Penfield 改良法)	(159)
(二)Grono 法显示少突胶质细胞	(161)
(三)Ramon Y Cajal 氯化金升汞法显示星状胶质细胞	(162)
(四)Marchalls 法显示小胶质和少突胶质细胞	(163)
(五)Golgi 法显示少突胶质细胞	(163)
(六)Scoff 改变法石蜡或冰冻切片显示三种神经胶质细胞	(164)
十二、脑的大厚片制作法	(165)
(一)Mulligan 的脑块浸染法	(165)
(二)脑的各部结构大面积火棉胶切片法	(166)
十三、中枢神经组织超薄大片的制作技术	(167)
十四、辣根过氧化物酶(HRP)微量注射与离子透入法(轴突传递法的应用)	(168)
(一)辣根过氧化物酶微量注射法	(168)
(二)辣根过氧化物酶离子透入法	(170)
(三)四甲基联苯胺显色法	(171)
第十一章 血管注射技术	(173)

第十二章 消化系统和呼吸系统	(176)
一、消化系统	(176)
(一)常规苏木精-伊红染色法	(176)
(二)过碘酸 Schiff 反应	(178)
(三)阿利新蓝染色法	(178)
(四)粘液卡红染色法	(178)
(五)小肠潘氏细胞染色法	(179)
(六)闭锁堤	(179)
(七)消化管的内分泌细胞	(179)
(八)肠肌丛(Auerbach 神经丛)镀银法	(184)
(九)肝血管双色注射	(185)
(十)肝血窦内星状细胞活体注射显示法	(185)
(十一)肝细胞糖原的组织化学显示法	(186)
(十二)肝细胞间的胆小管显示法	(186)
(十三)肝贮脂细胞显示法	(188)
(十四)胰岛 A、B 及 D 细胞显示法	(189)
二、呼吸系统	(192)
(一)取材	(192)
(二)固定	(192)
(三)嗅细胞及神经显示法	(193)
(四)肺的弹性纤维染色法	(193)
(五)肺的网状纤维染色法	(193)
(六)肺泡毛细血管网注射显示法	(193)
(七)肺泡上皮镀银法	(193)
(八)肺泡Ⅱ型细胞显示法	(194)
(九)分离气管上皮细胞法	(194)
第十三章 泌尿系统与生殖系统	(196)
一、泌尿系统	(196)
(一)肾的常规染色	(196)
(二)球旁细胞(JG)颗粒染色	(196)
二、生殖系统	(198)
(一)精液内的精子检测	(199)
(二)三色法	(199)

(三)Papanicolaou 精液涂片染色法	(200)
(四)精子核的苯胺蓝染色法	(201)
(五)精子核的萘醌磺酸钠(NQS)染色法配制试剂	(202)
(六)精子顶体的结晶紫染色法	(203)
(七)精子顶体的酶活性检测—底膜法	(204)
(八)人类精子头部膜的超薄切片改进染色法	(205)
第十四章 内分泌腺	(208)
一、甲状腺滤泡旁细胞显示法	(208)
(一)铅苏木精法	(208)
(二)Grimellus 银染色法	(209)
(三)Cajal 银染色法	(210)
二、甲状旁腺嗜酸性腺细胞	(211)
三、肾上腺嗜铬细胞	(211)
四、松果体细胞浸银显示法	(215)
五、脑垂体	(216)
(一)PFA-AB-PAS-OG 法	(217)
(二)AT-LFB-PAS 法	(218)
(三)BrAB-OFG 法	(220)
(四)铬矾-苏木精-焰红法	(221)
(五)醛-品红染色法显示神经分泌物质	(223)
(六)过甲酸-阿利新蓝染色法显示神经分泌物质法	(224)
(七)垂体细胞的染色	(224)
第十五章 皮肤、眼球及内耳	(225)
一、皮肤	(225)
(一)皮肤的一般染色	(225)
(二)黑色素细胞的显示	(225)
(三)细胞间桥	(229)
二、眼球	(229)
(一)Szent-Gyorgi 固定眼球切片法	(229)
(二)复方甲醛固定眼球法	(230)
(三)甲醛-冰醋酸-酒精(FAA)固定眼球法	(230)
(四)胚鼠视网膜移植入成年鼠视网膜损伤部位法	(231)
三、内耳	(232)

(一)常规染色法	(232)
(二)内耳蜗螺旋神经节双极神经细胞镀银 显示法(De Castro)	(233)
第十六章 染色体标本的制作	(235)
一、用外周血作染色体培养	(235)
(一)器材准备	(235)
(二)试剂配备	(235)
(三)接种培养	(236)
(四)制作染色体标本	(236)
二、骨髓染色体直接制备法	(237)
三、胸、腹水癌细胞染色体制备	(238)
四、小鼠睾丸生精细胞染色体制作	(238)
五、染色体分带技术	(239)
六、姊妹染色单体互换技术	(240)
七、用羊水细胞作染色体培养	(243)
八、用培养细胞染色体标本作扫描电镜观察法	(243)
九、自制植物血凝素(PHA)法	(244)
(一)生理盐水提取法	(244)
(二)乙醚-酒精提取法	(244)
第十七章 脱落细胞的涂片与染色	(245)
一、标本的处理	(245)
(一)常用的标本采集法	(246)
(二)标本的固定	(246)
(三)染色法	(246)
二、脱落细胞的观察	(249)
(一)正常女性生殖管道的脱落细胞	(249)
(二)关于病变的细胞学检查	(250)
(三)特殊的非典型状态	(251)
(四)呼吸道的脱落细胞	(258)
(五)胸、腹腔渗出液中的脱落细胞	(259)
三、性染色质的染色法	(259)
(一)Moore 焦油紫染色法	(259)
(二)Guard 猩红-坚牢绿染色法	(260)

四、核仁组成区相关嗜银蛋白(Ag-NOR)染色法	(260)
(一)取材与固定	(261)
(二)染色步骤	(261)
第十八章 细胞分离技术	(263)
一、细胞分离法	(263)
(一)粘附法	(263)
(二)密度梯度离心法	(267)
(三)亲合免疫分离法	(273)
(四)荧光激活细胞分类器	(275)
二、细胞计数.....	(276)
三、细胞活性测定	(278)
(一)台盼蓝染色法	(278)
(二)伊红 Y 染色法	(278)
(三)苯胺黑染色法	(279)
(四)吖啶橙荧光素测定细胞活性	(279)
(五)二乙酸盐荧光素测定细胞活性	(280)
第十九章 常用的组织化学方法	(281)
一、核酸	(281)
(一)Feulgen 反应显示 DNA	(282)
(二)甲基绿-派洛宁染色显示 DNA 与 RNA	(285)
(三)Schiff 反应块染法显示 DNA	(287)
(四)甲基绿的快速提纯法	(288)
二、碳水化合物	(290)
(一)碳水化合物分类	(290)
(二)碳水化合物各组分显示法	(291)
三、蛋白质与氨基酸	(299)
(一)蛋白质结合的氨基	(300)
(二)羟酚基	(300)
(三)二硫键与硫氢基	(301)
(四)吡啶基	(304)
(五)胍基	(305)
(六)二硝(基)氟苯法(DNFB)检测蛋白质	(306)
(七)汞-溴酚蓝法显示蛋白质	(308)

(八) 坚牢绿法显示碱性蛋白质	(308)
(九) 蛋白质各种活性基团封阻法	(309)
四、脂类	(310)
(一) 饿酸法显示非饱和脂质	(311)
√ (二) 溴-苏丹黑法显示脂类	(311)
(三) 溴-丙酮-苏丹黑法显示磷脂	(312)
√ (四) 油红 O 法显示脂类	(312)
(五) 硫酸尼罗蓝法显示酸性与中性脂类	(313)
(六) 铜-红氨酸法显示游离脂肪酸	(313)
(七) 过氯酸-萘醌(PAN)法显示胆固醇及其酯类	(314)
(八) 酸性苏木红法显示磷脂	(315)
(九) 浆醛反应法显示缩醛磷脂	(317)
(十) 脂类的抽提	(317)
√ (十一) 油红 O 显示培养的平滑肌细胞内所含脂类	(318)
(十二) 陈旧性脂肪组织的深冻切片法	(319)
五、酶类	(319)
(一) 酶的分类	(320)
(二) 酶的组织化学反应法	(320)
(三) 影响显示酶的因素	(321)
(四) 碱性磷酸酶钙-钴显示法	(321)
(五) 碱性磷酸酶重氮盐偶联显示法	(322)
(六) 酸性磷酸酶铅沉淀显示法	(322)
(七) 酸性磷酸酶重氮盐偶联法显示法	(323)
(八) 酸性磷酸酶偶氮色素法显示法	(324)
(九) 表皮郎格罕细胞 Na-KATPase 显示法	(325)
(十) 枸橼酸铅法显示脑组织的 Ca^{2+} -ATPase 超微结构定位	(326)
(十一) 硫代胆碱法显示胆碱酯酶(koelle)	(327)
(十二) koelle 块染法显示胆碱酯酶	(329)
(十三) Karnovsky-Roots 直接法显示胆碱酯酶	(329)
(十四) 脑细胞的细胞色素氧化酶的二氨基联苯胺(DAB) 显示法	(330)
(十五) 过氧化物酶-抗过氧化物酶(PAP)法显示 γ -氨基丁酸	(331)
第二十章 荧光显微镜技术和应用	(333)
一、荧光显微镜的使用	(333)

二、荧光色素与荧光染色	(337)
三、组织和细胞的自发性荧光	(340)
(一)显示肾上腺髓质细胞中去甲肾上腺素的荧光方法	(341)
(二)显示神经细胞、神经纤维和肥大细胞等单胺成分的荧光法	(341)
四、细胞和组织的荧光染色法	(343)
(一)活细胞荧光染色法	(343)
(二)固定标本荧光染色法	(345)
第二十一章 免疫细胞化学技术及应用	(352)
一、免疫细胞化学技术的基本原理	(352)
(一)直接法	(352)
(二)间接法	(354)
(三)补体法	(355)
二、免疫细胞化学技术方法	(356)
(一)免疫荧光技术	(356)
(二)免疫酶标技术	(358)
(三)过氧化物酶-抗过氧化物酶复合物法	(359)
(四)标记亲合素-生物素法	(361)
(五)桥连亲合素生物素法	(362)
(六)亲合素-生物素-过氧化物酶复合物法	(363)
三、免疫细胞化学技术的应用	(365)
(一)在细胞学方面的应用	(365)
(二)在微生物学中的应用	(367)
(三)在寄生虫学中的应用	(368)
(四)在临床病理学中的应用	(370)
(五)在自身免疫性疾病中的应用	(370)
四、免疫金的细胞化学和组织化学技术	(371)
(一)制备胶体金	(371)
(二)待标记蛋白质和胶体金的处理	(373)
(三)最适稳定蛋白质浓度的确定	(373)
(四)蛋白质的胶体金标记	(374)
(五)胶体金探针的纯化	(374)
(六)胶体金探针的鉴定	(375)