

组织胚胎学实验教案

姜 永 华

第二章 组织学与胚胎学实验技术

实验一 动物组织切片技术

第一部分 水产动物器官、组织的取材与固定

一、**实验目的：**通过该实验，识别水产动物各器官、组织并对其进行取样、固定，同时掌握水产动物解剖、取材和固定的基本方法。

二、**实验原理：**借助固定液的作用保存活体组织和细胞的原有形态结构，使之不致变形和变质。

三、实验材料：

1、健康的水产动物。

2、药品和器械：磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠、氯化钾、氯化钙、氯化镁、碳酸氢钠、甲醛、戊乙醛、蔗糖、天平、刻度尺、剪刀、镊子、刀片、解剖盘、培养皿、纱布、塑料切板、广口瓶、烧杯等。

四、实验准备：

- 1、清洗玻璃器皿
- 2、配制 0.1M 的磷酸钠缓冲液
- 3、配制 5% 中性甲醛固定液
- 4、配制水产动物的生理盐水
- 5、配制 5% 蔗糖缓冲液

五、实验步骤（以鱼类为例）：

- 1、灭活
- 2、用天平和直尺对鱼体进行称重和体长等的测量
- 3、鱼体的解剖与组织切取
- 4、将固定的材料放入冰箱（4℃）固定 10 小时
- 5、用 5% 的蔗糖缓冲液置换，密闭后放入冰箱冷藏（4℃）保存。

六、注意事项：

- 1、从鱼体取下组织后，应立即投入固定液中。
- 2、切取组织材料时必须小心仔细，刀要锐利。切取较大的组织块时只能一个方向，同时，预先要考虑好材料的方向性，如管状器官一般横切或纵切。
- 3、切取的组织块必须小而薄，一般厚度不要超过 3 毫米。

七、**实验要求与思考：**熟悉该实验的步骤及药品的配制；了解实验动物主要的组织和器官；如何做到准确取样并达到固定的要求？

第二部分 组织材料的石蜡包埋法

一、实验目的：掌握水产动物组织材料的常规石蜡包埋法。

二、实验原理：组织材料的逐级脱水、透明、透蜡和固体石蜡包埋。

三、实验材料：

1、已固定的组织材料。

2、药品和器械：酒精、二甲苯、石蜡、熔蜡杯、漏斗、牛皮纸、培养皿、染色缸或玻璃瓶、量筒、酒精灯、恒温箱、水槽、温台、木台、刀片、镊子等。

四、实验准备：

1、配制 0.1M 的磷酸钠缓冲液。

2、配制浓度为 50%、70%、80%、90% 的酒精溶液。

3、熔蜡

4、清洗染色缸

5、用牛皮纸折成小纸盒作为包埋容器

6、将洗净的培养皿放入恒温箱中加热备用

五、实验步骤：

1、冲洗

2、脱水

3、透明

4、透蜡

5、包埋

六、注意事项：

1、脱水时染色缸或玻璃瓶必须盖上盖子

2、材料的脱水必须彻底、完全

3、组织材料不能长时间浸泡在透明剂二甲苯中

4、恒温箱门应该随开随关，以免影响温度的恒定。

5、透蜡的温度不能过高，透蜡的时间要足够长。

6、在包埋和修块时一定要使材料居于蜡块中央，修块时蜡块的上下两边要平行。

七、实验要求和思考：

熟悉该实验的步骤并掌握石蜡包埋法的要领；认真做好组织材料石蜡包埋的全程工作；包埋过程中要识别各种器官组织并充分考虑其切片时的切面；在包埋过程中有哪些关键环节？

第三部分 水产动物组织的石蜡切片法

一、**实验目的：**掌握水产动物组织材料的石蜡切片技术。

二、**实验原理：**石蜡在室温条件下（一般 20℃左右为佳）的硬度适中，在此状态下运用石蜡切片机，可进行石蜡包埋组织块的切片。

三、**实验材料：**

1、石蜡包埋的组织块。

2、药品和器械：粘片液、石蜡切片机、清洁的载玻片、石蜡伸展台、毛笔、解剖针、吸水纸、切片盒等。

四、**实验准备：**

1、配制粘片液

2、清洗载玻片

五、**实验步骤：**

1、石蜡包埋块的做法：

(1) 石蜡块的固着

(2) 修块

2、掌握切片机的结构和使用方法

3、固定

4、调整石蜡块与刀口之间的角度与位置

5、调整厚度计

6、切片

7、贴片

8、捞片展片

9、切片工作结束后，将切片刀取下，放入刀盒内。用干净的纱布把切片机擦拭干净

六、**注意事项：**

1、室温不可过高或过低（20℃左右为宜），如条件允许，切片工作应在空调房内进行。

2、切片刀要研磨锋利。

3、木台在夹物台上一定要固定牢固。

4、摇动推动螺旋时要小心观察，蜡块不可以挨上或超过刀口。

5、摇转速度不可太急，要均匀。

6、粘片时粘片液不能涂得过厚，否则烘干时易产生气泡，烘干一定要彻底烘干。

七、**实验要求与思考：**

熟悉实验的步骤并掌握切片的操作技能；独立动手认真进行石蜡切片；分析蜡片的形态，如何使蜡片平行连接成带；解决蜡片皱折、伸展等技术问题。

第四部分 水产动物组织切片的染色及观察法

一、**实验目的：**掌握水产动物组织切片的染色方法和观察各器官组织的基本结构。

二、**实验原理：**不同染色剂对各器官组织结构的染色效果不同，产生不同的颜色和不同的折射率，可使组织或细胞内各部分的构造清晰地显示出来，便于利用光学显微镜进行观察研究，运用组织学的方法可以了解细胞组织的化学成分。

三、**实验材料：**

1、待染的组织切片。

2、药品和器械：酒精、二甲苯、苏木精、冰醋酸、甘油、钾矾、曙红 Y（伊红）、品红、甲基兰等染色剂、染色缸、树脂等。

四、**实验准备：**（H、E 染色为例）

1、清洗试剂瓶等玻璃器皿

2、配制苏木精染液

3、配制 0.5% 曙红 Y 染液

4、配制浓度为 95%、90%、70%、50% 的酒精溶液

5、清洗染色缸

五、**实验步骤：**

1、脱蜡

2、复水

3、染色

4、脱水

5、透明

6、封片

7、切片风干后，将切片放在显微镜下观察、判断与分析。

六、**注意事项：**

1、第一步的脱蜡必须彻底，否则会影响到下一步操作。

2、流水不能过大，荡洗的动作要轻缓，以防切片脱落。

3、染色的步骤要依次进行，不能前后颠倒。

4、不能有酸性或碱性的物质与透明剂接触。

5、封片时动作要快，以免切片上的二甲苯挥发尽后材料因变干而黑掉。

6、尽量避免人为的污染。

七、**实验要求与思考：**

理解细胞组织染色的原理和掌握染色的技能；认真观察染色后的器官、组织及细胞的基本结构；如何避免人为污染，如实反映切片的细胞组织结构？

第五部分 实验一的实验总要求

一、预习实验内容，初步了解、掌握水产动物组织切片技术的主要过程、操作步骤及其关键技能与难点。（课前自习）

二、在具体实验过程中，按照实验步骤认真、独立操作，用心掌握和熟悉操作要领，学会分析、思考及解决实验中遇到的技术问题与难点。（独立操作）

三、实验结束后，认真挑选、观察自己所制作的切片的组织及细胞的形态结构，并做简要的描述，同时，提交制作好的组织切片；如切片制作失败或质量不好，请分析具体原因。

（批改、记分）

实验二 动物组织的鉴别和胚胎发育的比较

第一部分 动物组织的鉴别

一、实验目的：

通过对几类动物的基本组织、器官组织等各类切片的观察、辨认和比较，了解、掌握它们的形态结构特征、差异性及其与功能的关系，同时，能进行不同动物各种组织的区分和鉴别，为今后从事动物组织学、细胞学等方面的研究奠定知识和技能基础。

二、材料和观察内容：

（一）上皮组织：

- 1、单层鳞状上皮（扁平上皮）
- 2、单层立方上皮
- 3、单层柱状上皮
- 4、复层扁平上皮（复层鳞状上皮）
- 5、变移上皮（移行上皮）

（二）结缔组织：

- 1、疏松结缔组织
- 2、透明软骨
- 3、骨组织（骨密质的结构）
- 4、血液（人血、蛙血、鱼血）

（三）肌肉组织：

- 1、平滑肌
- 2、骨骼肌
- 3、心脏肌

（四）神经组织：

- 1、多极神经元
- 2、有髓鞘神经纤维：

（五）消化器官

- 1、消化道的基本组织结构（鱼肠或蛙肠横切片）
- 2、肝脏（猪肝、鱼肝切片）

（六）生殖器官（鱼类）：

- 1、精巢
- 2、卵巢：

第二部分 胚胎发育的比较

一、实验目的：

通过对几类动物的胚胎发育过程各阶段切片的观察、比较和鉴别，了解、掌握它们的细胞形态结构变化、差异性、发育特点及规律，同时，能进行不同动物各种胚胎发育类型的区分和鉴别，为今后从事动物胚胎学、发育生物学、动物人工养殖与育苗等方面的研究奠定知识和技能基础。

二、材料和观察内容：

（一）卵子类型：

- 1、均黄卵
- 2、端黄卵
- 3、间黄卵
- 4、中黄卵

（二）卵裂的类型：

- 1、完全卵裂：
- 2、不全卵裂

（三）囊胚的类型：

- 1、有腔囊胚
- 2、盘状囊胚：
- 3、边围囊胚（表面囊胚）：

（四）原肠胚和原肠作用

- 1、文昌鱼原肠胚：
- 2、两栖类的原肠胚：
- 3、硬骨鱼类的原肠胚：

第三部分 实验二的实验总要求

一、预习实验内容，初步了解不同动物组织、器官及胚胎发育过程的形态结构特征、差异性、发育特点及规律。（课前自习）

二、对照实验指导书，利用显微镜认真观察不同动物的各类组织切片和胚胎发育切片，同时进行比较和区分，掌握其主要形态结构特征。（开放观察）

三、鉴别和确定所给定的几种组织切片和胚胎发育切片的名称，同时，简要描述各自的主要形态结构特征，最后，提交实验报告。（批改、记分）