

## 第 4 單元

# 細胞染色法

## 壹、實驗背景

雖然血液之於人類生存的重要性顯而易見，但一般人對血液的瞭解並不多。血液是由血漿及血球所構成，血漿中含有水分及各種不同的蛋白質，而血球細胞則是自骨髓幹細胞及淋巴幹細胞分化而來，含有紅血球、白血球及血小板。不同種類的血球細胞，其形態、數量及功能各有不同，當數量異常時即會引發疾病（表 4-1、4-2）。

表 4-1 血液血球細胞之基本特徵

血球種類	形態	功能	數量 (單位： $10^3/\mu\text{L}$ )	數量異常引發之疾病
紅血球 (red blood cell)	無細胞核的雙凹圓盤狀	攜帶養分及氧氣	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 男性：400~552</li> <li>• 女性：378~499</li> </ul>	低：貧血
白血球 (white blood cell)	具細胞核的圓球形	抵抗外來病原菌	3.54~9.06	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 低：病毒性疾病</li> <li>• 高：發炎、感染、白血病</li> </ul>
血小板 (platelet)	無細胞核的圓盤狀細胞碎片	血液凝固	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 男性：148~339</li> <li>• 女性：150~361</li> </ul>	低：凝血障礙

表 4-2 血液白血球的基本特徵

白血球種類	免疫反應類別	佔白血球比例 (%)	成熟白血球核形
嗜中性白血球 (neutrophil)	先天性免疫	55~75	3~5 葉，細胞質少顆粒
嗜酸性白血球 (eosinophil)		1~5	3~5 葉，細胞質中有紅色嗜酸性顆粒
嗜鹼性白血球 (basophile)		0.5	3~5 葉，細胞質中有藍紫色嗜鹼性顆粒
單核球細胞 (monocyte)		3~8	圓形或腎形
淋巴球細胞 (lymphocyte)	後天性免疫	20~40	卵形



## 貳、實驗目的

了解血球細胞的基本特徵，學習如何製備血液抹片，並透過練習 1953 年台灣大學劉禎輝教授開發的血球細胞快速染色法（改良自 Romanowsky stain），辨別血液中的各種血球細胞。

## 參、藥品與材料

1. 人類靜脈血血液。
2. 載玻片（至少兩片）。
3. 滴管。
4. 酒精棉片。
5. 無菌管（含 EDTA）。
6. 止血帶。
7. 濾紙。
8. 鐵盤。
9. 鐵架。
10. 細胞染劑 (LiuA、LiuB)。

## 肆、實驗步驟

### 一、採血步驟

1. 先找到被抽血人之前臂正中肘靜脈。
2. 綁上止血帶。
3. 以酒精棉片消毒欲抽血部位之皮膚，由中間向外以同心圓方式擦拭（不可來回擦拭）；如欲再消毒第二次，需以另一新的乾淨酒精棉片重新以同樣方式擦拭消毒。
4. 採血 1ml 放入含 EDTA 抗凝劑之無菌管，充分混合避免血液凝固。

### 二、血液抹片製備步驟

1. 以酒精棉片將載玻片徹底擦拭乾淨（正反兩面皆要）。
2. 以滴管將一小滴血液樣本滴在此載玻片上。
3. 取另一載玻片，壓住血滴使其慢慢擴散成一直線。
4. 呈 45 度角後，快速的往前推進（不可再回推）使血液抹片在玻片的表面呈現薄且均勻的狀態。
5. 放置於室溫下，讓其自然風乾（室溫下約 1~2 分鐘）。

### 三、染色步驟

1. 取適量 LiuA 染劑，滴在製備好的血液抹片上（大約需反應 30 秒）。
2. 再取 LiuB 染劑滴在抹片上 (LiuA : LiuB=1 : 2)。

3. 兩種染劑混合（金屬光澤會在混合液表面出現，反應 90 秒）。
4. 將混合液倒掉，並以自來水輕輕沖洗玻片背面（約 15~20 秒）。
5. 將玻片置於鐵架上自然風乾（鐵架需先架在鐵盤上）。
6. 以顯微鏡進行觀察（健康者之血液抹片染色結果，如圖 4-1）。

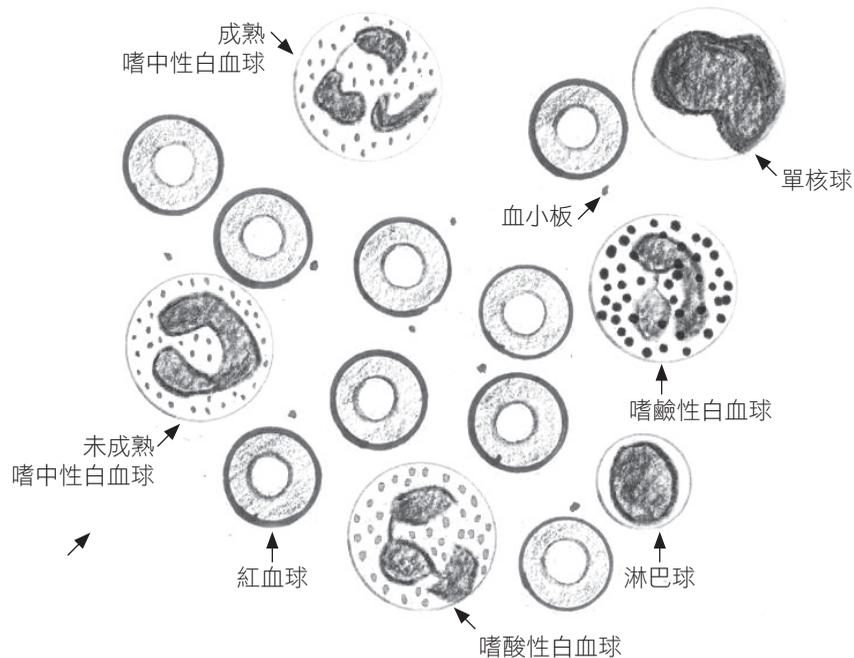


圖 4-1 健康者血球示意圖

#### 四、顯微鏡觀察步驟

1. 將染色好之血液抹片放置顯微鏡載物台上。
2. 先以低倍 (10X) 物鏡找到目標，再將物鏡轉至高倍 (40X) 觀察。

#### 伍、注意事項

1. 抽完血後，選擇儲存全血之抗凝血試管需慎重，要選擇含 EDTA，而不要使用含 oxalate 或 heparin 抗凝劑之血液製作抹片，oxalate 易使白血球變質，heparin 會使血小板降低。
2. 請勿使用冷藏過之血液檢體，因為冷藏過之檢體不僅紅血球會皺縮，且白血球細胞膜會遭到破壞，使得血球型態不易判讀，易造成非典型淋巴球增多。



3. 冷藏過的檢體會引起顆粒球細胞和單核球細胞變質或減少，尤其會使細胞核或細胞質發生空泡。先是單核球細胞，然後是嗜中性白血球，而淋巴球細胞之細胞核則會出現分葉，也可能會造成嗜中性白血球或嗜酸性白血球聚集。
4. 血液抹片製備的好壞會嚴重影響染色結果，因此在一開始進行推片的時候，務必要作到均勻分布（在玻片上形成薄薄一層），不可有些地方多，有些地方少。
5. 以顯微鏡進行觀察時，要注意粗調節輪不可一下轉太快，以防物鏡鏡頭直接碰觸玻片，造成鏡頭損壞。
6. 以顯微鏡進行觀察時，有時會看到疑似欲觀察之目標細胞，要確定視野中的影像確實是欲觀察的目標細胞，只要調整玻片推進器，稍微上下左右移動玻片並觀察視野中的影像是否有隨之移動即可確定，若影像並不會隨之移動，則代表還未找到目標細胞，需再以粗調節輪調整到適當的焦距。

染色時，Liu A 與 LiuB 染劑的比例要盡可能維持 1:2。

## 單元練習

### 壹、選擇題

- ( ) 1. 1953 年由台灣大學教授所研發之快速血液細胞染色法是下列何者？(A)Giemsa stain (B)Gram stain (C)Liu's stain (D) 以上皆是。
- ( ) 2. 進行血球抹片染色所使用的劉氏染色法 (Liu's stain)，其中 Liu's A 及 Liu's B 兩種染劑的比例為下列何者？(A)1:3 (B)3:1 (C)2:1 (D)1:2。
- ( ) 3. 人類的血液抹片透過劉氏染色法，可觀察到嗜中性白血球的細胞核會被染成下列何種顏色？(A) 紅色 (B) 藍紫色 (C) 淡紅色 (D) 灰色。
- ( ) 4. 染色實驗的過程中，若要對玻片樣本進行清洗，會特別注意玻片要以何種方式清洗？(A) 正面 (B) 背面 (C) 斜面 (D) 以上皆非。
- ( ) 5. 人類血液的血球細胞中，何種血球細胞數量最多？(A) 紅血球

- (B) 嗜中性白血球 (C) 淋巴球 (D) 單核球。
- ( ) 6. 人類血液中，何種白血球的數量最多？(A) 嗜中性白血球 (B) 嗜酸性白血球 (C) 嗜鹼性白血球 (D) 單核球。

**解答** 1. (C) 2. (D) 3. (B) 4. (B) 5. (A) 6. (A)

## 貳、簡答題

1. 血液中有哪些白血球屬於顆粒細胞？
2. 淋巴球細胞經由染色後會呈現哪些與其它白血球細胞不同的特徵？
3. 請畫出紅血球的形態。



成功地克服困難是最大的光榮。

Adversity successfully overcome is the highest glory.

*Note*