

- [12] Michael R. Kuettel et al., 1985, *J Cell Biol.*, 101: 965—975.
 [13] J. Sambrook et al., 1989, *Molecular Cloning a Laboratory Manual* P. 18, 16—18, 74.

- [14] 王保乐, 1984, 胶体金探针及免疫金、免疫金银染色方法讲义, p 21—24.

半薄切片的碱性美蓝-品红染色法

孟珊珊 岳焕勤 吴珂

(成都计划生育技术干部培训中心 610041)

在以电镜观察为主要手段之一的形态学研究中,经常需要在电镜观察之前、进行半薄切片的光镜观察,以区别各种类型的组织细胞,确定超薄切片的部位^[1,2]。目前,半薄切片的染色方法已不少,如美蓝法、H.E法、甲苯胺蓝法、甲苯胺蓝-美蓝法、碱性品红和亚甲蓝法等。这些方法虽然都能达到光镜定位观察的基本要求,但其中有些操作比较复杂或效果不十分理想。我们在工作中摸索出一种碱性美蓝-品红染色法,操作简便而染色效果较好。

材料和方 法

1. 切片 人或动物组织,按透射电镜生物样品制备方法制作,半薄切片厚度为1 μm 至1.5 μm ,置载玻片上,40 $^{\circ}\text{C}$ 烘干或自然干燥备用。

2. 染液配制 美蓝0.1克,碳酸钾0.1克,无水乙醇2毫升,加入双蒸水10毫升,混合后在40—50 $^{\circ}\text{C}$ 条件下使之充分溶解,再加入碱性品红0.1克,无水乙醇1毫升,混匀,置棕色瓶内,保存于室温下备用。

3. 染色步骤

(1) 将有半薄切片的载玻片置于40 $^{\circ}\text{C}$ 烤片器上或温箱中预热3—5分钟。

(2) 滴3—4滴染液于切片上。再滴2倍量蒸馏水,轻晃玻片使混匀,40 $^{\circ}\text{C}$ 条件下染3—5分钟。

(3) 倾弃染液,以0.2 N盐酸2—3滴冲洗切片一次,再以自来水冲洗5—10秒钟。

(4) 自然干燥或40 $^{\circ}\text{C}$ 烘干。若需保存,可用光学切片封固剂封片。

结果与讨论

用该方法分别对兔和小鼠的大脑皮质、心脏、血管、肝、肺、肾和小肠等器官的半薄切片进行染色,均得到较满意的效果。光镜下,可见一般情况为:细胞界限清楚,各种组织易于区分(图版图1)。某些器官组织经该方法染色后,色彩丰富。如肾小囊的细胞和肾小球毛细血管内皮细胞呈灰蓝色,而肾小球的红细胞呈深蓝色;近曲小管管腔内的液体呈淡红色或淡灰色,管壁上皮细胞的胞质为蓝色,核膜与染色质为深蓝紫色,远曲小管上皮细胞的胞质淡紫色或蓝绿色,核呈紫红色(图2)。小肠腺的潘氏细胞的胞质呈淡灰色而分泌颗粒呈深蓝色(图3)。另外,该方法可清楚显示肺泡腔内的尘细胞(图4)和肺泡壁II型细胞,可将结缔组织中的肥大细胞胞质染为红色,胞质中的粗大颗粒染成紫黑色。

美蓝是一种人工合成染料。1819年,Unna氏发现美蓝在碱性条件下具有多色性^[3],因而在美蓝溶液中加入碳酸钾使其呈碱性。1968年,Huber^[4]用美蓝对经过碱性品红染色的半薄切片进行复染,从而达到多重染色的目的;1973年Sato和Shamoto^[5]则使用碱性品红和美蓝的混合液进行半薄切片染色。我们在实际工作中,采用国产试剂,用Huber染色法、Sato和Shamoto染色法与我们的碱性美蓝-品红染色法分别对小鼠脑、肠,兔肾和人心脏半薄

切片进行了染色。经比较,发现应用 Huber 染色法,细胞界限清楚,细胞细微结构显示好,切片的色调偏蓝色。该方法染色过程中需要有 70℃和 25℃两种不同的温度条件,且碱性品红需新鲜配制。使用 Sato 和 Shamoto 染色法,染色浅淡,细胞界限不够清楚,细胞的细微结构显示较差。而使用我们的碱性美蓝-品红染色法,组织中的细胞界限和细胞细微结构的显示与 Huber 法所得到的结果不相上下,而色彩较 Huber 法丰富,且染液不需新鲜配制,一次配制的碱性美蓝-品红染液可在室温下较长期保存;染色时,在 40—50℃条件下完成,不需再调整温度,操作步骤较 Huber 法简便。经碱性美蓝-品红法染色后的半薄切片,至少在两年中不会褪色,宜于长期保存。

实践中,我们对可能影响染色效果的因素进行了探索,发现(1)半薄片厚度在 1 μ m 左右为好,太薄时染色浅淡,反差弱;太厚时染色过深,色彩不丰富。故太薄太厚的切片不能染出色彩丰富的镜观。(2)用酸性溶液进行分化的效果好。我们曾对比地使用酸性和碱性溶液对切片进行分化,发现 0.2 N 盐酸分化后的

切片染色反应好,组织结构显示清晰。(3)使用未经处理的新的载玻片,用绸布擦拭后即使用,可避免染色过程中的脱片。若使用涂抹了甲醛明胶等的载玻片,染色后切片易皱缩。

摘 要

本文介绍一种半薄切片的碱性美蓝-品红染色法。该方法可清晰地显示光镜水平的组织结构和细胞内部细微结构,且操作简便、省时,便于电镜观察前的组织定位。

参 考 文 献

- [1] Knight D. P., 1977, In *Staining Methods for Sectioned Material*, ed. by Lewis P. R. & Knight D. P., pp. 26, North-Holland Publishing Company, Amsterdam.
- [2] 蔡文琴等, 1988 年, 电子显微镜术在临床医学的应用, 抗振镛等主编, pp. 24, 重庆出版社。
- [3] 芮菊生, 1980 年, 组织切片技术, 芮菊生等主编, pp. 39, 人民教育出版社。
- [4] Huber J. D. et al., 1968, *Stain Technology*, 43 (2): 83—87.
- [5] Sato T. and Shamoto M., 1973, *Stain Technology*, 48 (5): 223—227.

中国细胞生物学学会第五届理事会名单

(1992 年 11 月 22 日选举产生)

理 事 长: 王亚辉

副 理 事 长: 翟中和 左嘉客 贾敬芬 薛绍白 郝 水

秘 书 长: 徐永华

副 秘 书 长: 周 郑

常务理事(按姓名拼音字母序先后排列):

白永延 陈瑞阳 郝 水 黄 立 黄祥辉 贾敬芬 李文安 毛树坚 宋今丹 汤雪明 王亚辉 徐永华
薛绍白 杨抚华 杨弘远 翟中和 张小云 周 郑 左嘉客

理事(按姓名拼音字母序先后排列):

陈楚楚 陈尊器 杜德林 段金玉 丰美福 韩贻仁 黄宗平 蒋一瑾 李宝健 李靖炎 梁 平 刘 兢
楼定安 马庆生 缪树华 牛富文 申家恒 孙大业 孙敬三 仝允栩 王喜忠 吴贤汉 许设科 徐在宽
许智宏 薛京伦 杨世杰 叶 敏 袁仕取 章静波 周青山 周柔丽 庄临之

(保留台湾省理事 1 名)