

小鼠尾血淋巴细胞微核制片法

薛开先 孙玉洁 周平
(江苏省肿瘤防治研究所细胞遗传室)

小鼠骨髓细胞微核测试法建立以来,获得了广泛的应用,可评价各种理化因子的致癌、致突变效应,并可了解对生殖细胞的遗传效应^[1,2]。制备小鼠骨髓细胞微核片,程序较复杂,且需处死动物,所以实验必须采用组间设计,显然没有采用自身对照、系统观察为合理和节约实验动物。我们采用肝素抗凝,甲基纤维素(下简称甲纤)促红细胞凝集,建立了仅需1—2滴小鼠尾血的淋巴细胞微核测试法。此法亦适用于人体末梢血。制片程序、影响因素如下:

实验用BALB/C小鼠2只,杂种鼠9只。甲纤为进口分装。肝素钠为上海制药厂出品。

制片一般程序

1. 采血 将小鼠的尾部浸泡于45℃的温水中3分钟左右,促使尾静脉扩张,用锐剪断尾,片刻血自出(室温过低影响出血);

2. 抗凝 用120 μ/ml肝素钠生理盐水液湿润微吸管壁,以此管连续吸血0.05 ml(1—2滴)左右,注入预先用肝素湿润的小沉降管中^[3];

3. 沉降 加入1/2抗凝血量的0.5%甲纤生理盐水溶液(配制时置于4℃冰箱中过夜即可自溶,加热呈凝胶状);在37℃培养箱中自然沉降20分钟左右;

4. 制片、染色、镜检 吸取上清液,置于自置的小离心管中,离心1000 r.p.m,6分钟。吸弃上清液,留少量液体,小心混匀沉淀物,吸出推片、气干。1:10 Giemsa (pH 6.4 P.B.S)染色5分钟左右(与室温有关),一次可获得4000个左右可供分析的大淋巴细胞(小鼠尾血中有一定数量的外周小淋巴细胞,含细胞

质很少,影响微核指标的可靠性,故不作观察),可看到典型的淋巴细胞微核。

1—2滴的人手指血采用肝素、甲纤法制片,亦获得了满意的结果。和去纤维蛋白的明胶法相比,该法似损失淋巴细胞较少。

从以上初步结果看来,自身对照、连续观察,1—2滴小鼠尾血的淋巴细胞微核,作为评价有害因子的致癌突变效应的体内短期检测法,可供选择使用。

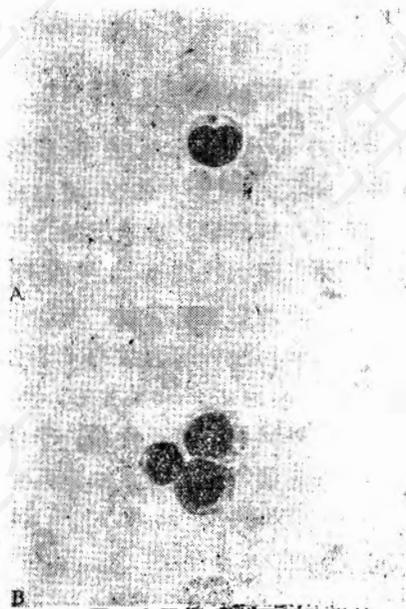


图 小鼠尾血淋巴细胞微核
a 单微核 b 三微核

参 考 文 献

- [1] Matter B et al. 1971. *Mutat Res* 12:417—435.
- [2] ICPEM, 1983. *Mutat Res* 114:117—177.
- [3] 薛开先等。1984. *动物学研究*, 5:255—260.