

磨针仪的自制及其使用

汪兆琦

(中国医学科学院基础医学研究所)

磨针仪是专门用于磨制玻璃微吸管尖端的小型仪器。毛细玻璃管拉制成的微吸管，是生理学，神经生物学，显微手术，显微操作实验中常用的工具。

出于不同的目的，对玻璃微吸管尖端的要求不同。用于生理学记录细胞膜内外电位差的微电极，和用于体细胞或卵细胞核内注射大分子的微吸管，要求其尖端很尖细，口径一般不超过 1μ 。但是鱼类，两栖类卵细胞的大分子注射，及哺乳类卵细胞的核移植，微吸管口径则达 10μ 。用于鱼类、两栖类卵细胞的核移植(或核注射)微吸管尖端甚至可达 $15-25\mu$ 。有时为了对神经细胞核团注射大分子或药物，其尖端往往要大至 40μ 以上。一般地，微吸管拉针器所拉制的微吸管尖端小于 0.5μ ，甚或封口，如若用于不同的用途，则首先根据需要开口和磨制成斜面的尖针状。尤其是使用较粗口径的微吸管，其尖端加工磨制的好坏，有时关系着实验的成败。磨针仪的研制成功，对于进行上述各种实验的实验室磨制微吸管尖端是十分必需的。目前国内尚无专业厂家特定生产这种仪器，虽然个别实验室已从国外购进该仪器，但是仍有部分实验室尚未配置，因此不得不采取一些手工的办法来处理微吸管尖端成尖锐状。一般是以微吸管尖端撞击硬物，或以快剪，剪切成尖锐的尖端。但使用这些方法的合格率往往很低，一般经加工后能合用的微吸管只有 $20-30\%$ 。鉴于上述情况，本实验室考虑到生理学，神经生物学的科研与教学的需要，以及国内越来越多的大学和科研单位开始注意到显微注射和显微操作技术的应用。我们在此将这种仪器的设计安装及其使用作一介绍。

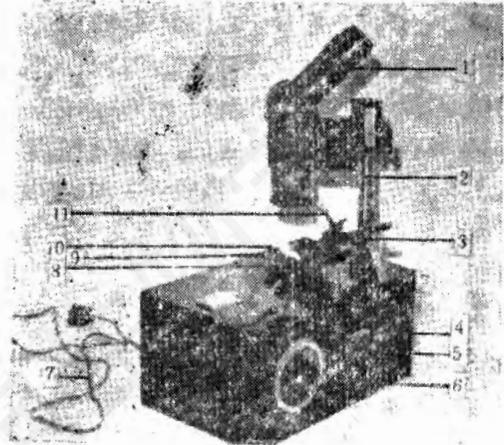


图 1 示自制磨针仪

1. 解剖镜 2. 升降杆 3. 可调角度移动尺 4. 开关 5. 指示灯 6. 调压器转盘 7. 导线 8. 电机转动轴 9. 磨轮 10. 水刷 11. 持针器

一、设计安装

图 1 是我们实验室参照国外同类产品而自行装配的磨针仪。

1. 所用材料：a. 解剖镜一台。普通解剖镜即可。

b. 金刚砂或氧化铝磨料的磨轮二付(粒度 0.2μ ， 10μ 各一付)。

c. 变速电机(25 W)，或串激电机(2000 转/25 W)。

d. 和串激电机配置的小型调压器。

e. 显微镜台移动尺一付。

f. 开关，指示灯，保险丝，导线等。

2. 安装：如图 1 所示。做一金属套固定在电机转轴上，然后将磨轮旋紧于金属套上，

注：本文承蒙章静波副教授指导和审阅，特此表示感谢。

本仪器承蒙本所五金车间同志大力协助装配，特此感谢。

根据需要磨轮可装卸,切不可使磨轮摆动。解剖镜装于机体一侧的升降杆上,使操作者能通过镜头直接观察到磨轮表面,以便在磨制过程中准确地操纵持针器和调节磨轮转速。在磨轮一侧装有一显微镜移动尺,尺下装有两维的可 360° 旋转的紧固螺钉,这样不但可以调整所磨微吸管的角位,而且可以调节微吸管在磨轮上的位置。移动尺前端装上自由夹成为持针器。移动尺与磨轮的相对位置要保证所磨之微吸管指向与磨轮转向相同。在磨轮上接一水刷,它是磨制精巧的微吸管所必需的,它不但能刷去磨轮上的尘埃,亦起到保护微吸管尖端的作用。靠近操作者侧面面板可安装调压器的调控盘、开关和指示灯。

二、使用过程

1. 毛细玻璃管毛坯的清洗: $0.8-1.4\text{ mm}$ 口径的硬质毛细玻璃管,硫酸重铬酸钾洗液浸泡过夜,蒸馏水冲净, 60°C , 24 小时烘干,密封保存。

2. 微吸管的拉制: 国产或进口的微吸管拉针器,调整合适的拉力和电流强度,即调整电热丝的加热量,拉制不同型式的微吸管。用于体细胞和小的受体细胞的大分子注射的微吸管需要拉制成一肩状形(图 2, A)。这种情况需要较大的拉力和较高的电流强度。而用于大部分细胞核(或其它细胞器)的移植(或注射)则微吸管拉成斜度很小,而且拉出部分不宜过长的形状(图 2, B),这时需要调较小的拉力和较弱的电流强度。

3. 微吸管尖端的磨制: 微吸管拉制后,其尖端往往很细($0.5-1.0\mu$),有时甚至封住口,对体细胞的注射也需要开口和扩口,用磨针仪开口或扩口合格率很高,可达 100%。用于细胞核移植和细胞核团注射的微吸管口径可达 $15-40\mu$ 。因此一定要把尖端磨成斜面的尖针状。否则不但刺入细胞时阻力很大,而且极易损伤细胞。

先开动机器用水刷刷净磨面。由移动尺按一定角度将微吸管送到磨轮上,通过解剖镜观

察,小心把微吸管尖端接触磨面,转速不要超过 400 转/分。一般 20—30 秒即可磨好一支。所需微吸管口径大小由磨进的深度控制。我们的这台磨针仪所磨制的微吸管尖端从 $20\mu-50\mu$ 皆可获得满意的效果。但是在操作中,由于 15μ 以上口径微吸管尖端即使磨成斜面,依然很钝。因此我们推荐对 15μ 以上口径的微吸



图 2 示不同型式的微吸管前端

- A. 用于体细胞注射的微吸管
B. 用于大的受体细胞,进行粗颗粒物质注射的微吸管

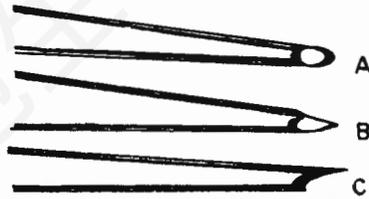


图 3 示“双磨法”磨制的微吸管尖端

- A. 单磨后微吸管尖端;
B. 双磨后微吸管尖端;
C. B 的侧面观

管进行我们所谓的“双磨法”。就是先把微吸管尖端磨成适当口径的斜面尖端(图 3, A),然后将微吸管沿其长轴转动一个角度($120^\circ-150^\circ$),再磨一次,结果就形成一个具有双斜面尖锐尖端的微吸管(图 3, B, C)。实验证明,它不但大大提高了实验的工作效率,而且可以大大减低对受体细胞的损伤。

4. 磨后清洗: 磨过的微吸管,首先于 15% 硫酸吹打 6 次,去污,然后于干净的蒸馏水中吹打 6 次。彻底排出管中之水,存于干净玻璃皿内, 60°C 干燥过夜。

小 结

用我们自制的磨针仪磨制的微吸管与国外同类仪器磨出的微吸管相比,完全能满足实验要求。尤其是我们采用“双磨法”后,使用效果更佳。在鱼类、两栖类卵细胞的核注射或大分

子注射,及神经细胞核团的注射等实验中,使用效果非常理想。由于这种仪器结构并不复杂,造价也很低(不足200元),价钱相当于国外同

类产品的1/5—1/10。因此依靠自己的现有条件,完全可以装配一台既经济又实用的磨针仪来代替手工的加工方法。

吖啶橙荧光染色法和 Giemsa 染色法对微核的比较观察

孔志明

(南京大学环境科学研究所环境生物研究室)

大石英恒

(日本国爱知县发达障害研究所细胞遗传研究室)

微核试验是筛选环境诱变物和化学致癌物的一种快速、经济的测定方法。到目前为止,只有小鼠骨髓细胞微核试验发展为标准的试验方法。并为国际环境致突变物和致癌物防护委员会所肯定。

近年来,日本国立卫生试验所林真等人研究了能与DNA结合而发出特异性荧光的吖啶橙(Acridine Orange),并首先将吖啶橙荧光染色法(A.O染色法)应用于微核试验。在他们的指导下,我们也应用A.O荧光染色法进行了微核试验。现将做法与结果介绍如下:

用DDY 9—10周龄雄性小白鼠(日本静岡県实验动物农业协同组合)。按3 mg/kg体重一次腹腔注射MMC,每组设6只小白鼠,分别在12小时,18小时,24小时,30小时和48小时后,以颈椎脱臼处死动物,取出股骨,用少量小牛血清(约0.6 ml)冲洗骨髓细胞,离心(1000 rpm, 5分)后,弃去上清液,留少量血清悬浮后进行涂片。分别用A.O法和Giemsa法进行染色。另设一组阴性对照。

Giemsa 染色法

1. 涂片后的标本用甲醇固定5分钟。
2. 2.5%Giemsa染色20—30分钟(Giemsa原液用pH 6.8的Sörensen缓冲液稀释)。
3. 染色好的标本在缓冲液中洗涤后,在0.004%柠檬酸中浸数秒钟。
4. 用去离子水洗涤后,凉干,然后用显微镜观察。

荧光染色法

1. 涂片好的标本用甲醇固定5分钟。
2. 将0.1%A.O原液用pH 7.0 McIlvaine缓冲

液稀释成20倍后,染色15分钟。

3. 用缓冲液洗涤3次,每次数秒钟。

4. 用同一缓冲液封片后,在荧光显微镜下观察。

对每只小白鼠作成的标本,分别用A.O法和Giemsa法,观察1000个嗜多染红细胞(Polychromatic erythrocyte, PCE),求出有微核的嗜多染红细胞(micronucleated polychromatic erythrocyte, MNPCE)出现的频率(MNPCE%)。

作为对骨髓增殖抑制的指标,再用二种方法,求出嗜多染红细胞在全红细胞中的百分比(PCE%)。嗜多染红细胞,随其成熟的程度,颜色由灰兰色,慢慢过渡到淡红色,且形状不相同,大小也不一致,而正染

表1 A.O法和Giemsa法染色结果比较

类别	A.O染色法	Giemsa染色法
微核	绿色荧光	深兰色
嗜多染红细胞	桔红色荧光	灰兰色
正染红细胞	无荧光	淡红色

红细胞(Normochromatic erythrocyte, NCE大都呈圆形,大小亦较均匀(表1))。

实验结果均表明,小白鼠经MMC处理(3 mg/kg体重)后,MNPCE的出现频率,随时间的增加而增加24小时频率最高,但24小时后,逐渐减少,经统计学处理,MNPCE的出现频率,与对照组相比,有高度显著性差异($p < 0.001$)。嗜多染红细胞在全红细胞中所占的比例(PCE%),随时间的增加而减少(表2)。

两种方法所测得的结果,对照组之间以及在同一时相实验组之间的MNPCE%, PCE%均无显著性差