

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

表 2 DDY 雄性小白鼠经腹腔一次注射 MMC(3 mg/kg)后有微核嗜多染红细胞的出现频率及嗜多染红细胞在全红细胞中所占比例

MMC 处理 后时间(小时)	MNPCE(%)*		PCE(%)**	
	Giemsa	A.O.	Giemsa	A.O.
0	0.23±0.07	0.20±0.06	57.67±4.66	58.16±5.16
12	1.75±0.33	1.50±0.13	55.83±4.30	57.16±4.30
18	3.15±0.67	2.75±0.33	49.00±11.89	55.00±6.66
24	9.33±0.25	8.83±0.76	44.00±7.13	46.67±2.78
30	7.83±1.84	7.63±1.84	39.00±1.59	41.67±2.98
48	3.00±1.42	2.80±1.11	35.00±7.76	38.17±10.31

\* MNPCE(%): 有微核嗜多染红细胞的 出现频率。

\*\* PCE(%): 嗜多染红细胞在全细胞中所占比率。

异( $p>0.05$ )。

根据上述结果, 可见 A.O 染色对 PCE 的 判别较

容易, 能避免来自肥大细胞颗粒所造成的假阳性。这 些都与国内已发表的同类工作所得的结果相似。

#### 介绍一种用普通计算器的累加功能进行细胞计数的简便方法

将计算器打开后, 先按[1], 再按[+], 注意: 有些型号的计算器(如SHARP)只需按一次[+], 另一些型号 计算器(如CASIO)则需连接二次[+]。现在计算器上已显示出计数的“1”, 以后从数第二个细胞开始, 每计数 一个细胞按一次[=], 直至完成一次细胞计数。有少数型号计算器在第一次按[=]时数字显示为“1”, 以后每 按一次[=]递增 1。由于不同型号计算器的功能不完全一样, 读者在应用时应根据具体情况, 或许你能找到更好的 计数方法。

用计算器计数细胞有几个优点: (1)计算器的使用已很普遍, 对于手头一时没有手撒细胞计数的人 来说, 计算机无疑是一个很好的替代工具; (2)计算器复位快; (3)可以直接在计算器上进行一些计算, 并且可将结果暂时 贮存。

上海医科大学

张 雷

更正: 本刊 1987 年第 1 期封二目录及第 31 页题目应为“低 密度脂蛋白受体的酶标和免疫酶标的定位研究。”