文章编号:1000-5404(2009)14-1415-01

技术方法

猫神经节细胞高尔基体的固定与染色法

柳建平 (重庆师范大学生命科学学院生物化学与分子生物学教研室,重庆 400047)

摘 要:目的 介绍动物高尔基复合体(Golgi complex)切片制作的改进技术。**方法** 选用猫颈椎脊神经节,以氯化镉为固定剂,适量增加染色剂的用量,减少还原剂的用量,按常规方法制成永久装片。**结果** 光镜下可清楚地观察到弯曲的线状、点状棕褐色的高尔基体。**结论** 采用本方法制作高尔基体切片,取材容易,时间短,无污染、不需复染,在光镜下能清楚地观察各种形态的高尔基体。

传统的高尔基体切片制作法多以兔脊神经节为材料,并按常规方法制成永久装片[1,2]。我们在实践过程中对传统的制作技术进行了改进,选择无污染的固定剂,同时对染色剂和还原剂的用量作了适当调整,取得了良好效果,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

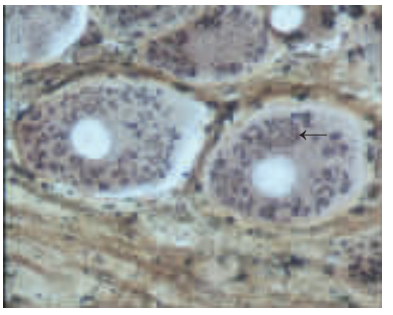
取健康猫1只(3岁龄左右,雌雄不拘,体质量3~4 kg,重庆医科大学实验动物中心提供),浸入水中溺死。立即用骨剪打开颈椎前1、2节,在椎管内缘外侧找到米粒大小的突胞即神经节,用眼科镊夹于神经,迅速剪下脊神经节。

1.2 方法

取氯化镉1 g、中性福尔马林15 ml溶于85 ml蒸馏水,配制固定液,备用。将剪下的神经节迅速投入已配制好的固定液中固定5 h后快速用蒸馏水冲洗3次再迅速浸入到2%硝酸银溶液中,于22 ℃恒温箱中避光染色20 h,染色结束立即用蒸馏水快速冲洗3次。取对苯二酚(Hydroquinone)1.5 g,中性福尔马林20 ml,无水亚硫酸钠0.2 g,100 ml蒸馏水配制还原液。染色冲洗干净的颈椎神经节组织浸入到还原液中8~10 h,中间更换1次新液,直到组织块在还原液中逐渐变成棕色至深棕色为止。按常规方法切片:脱水→透明→石蜡包埋→切片→脱蜡→封片(加拿大树胶)。

2 结果

采用Nikon E200显微镜观察制作好的装片。神经细胞界限明显,细胞核呈空泡状,周围细胞质被染成金黄色,细胞质中有许多染成棕褐色卷曲的线状、颗粒状,或不规则网状结构的高尔基体,显示清晰,对比明显(图1)。



↑:高尔基体

图1 显微镜观察猫颈椎神经节石蜡切片 (×400)

3 讨论

本实验参照了张泽林等[2]制作高尔基体切片的方法,但在实践过程中,对实验动物及固定剂的选择,染色剂、还原剂的用量及各环节所需要的时间进行了筛选和改进。本方法取材容易,简单易行,以氯化镉为固定剂,较硝酸铀具有毒性小、无污染、无放射性等优点[3]。本方法固定时间仅需5 h。银染过程以0.75%~1.5%的硝酸银染色效果好[2],我们在实践中将硝酸银的浓度提高至2%后,染色20 h,效果更佳。还原剂无水亚硫酸钠用量可减少至0.2 g,材料还原8~10 h,中间更换1次新液还原效果更佳。本实验方法制作的高尔基体切片,蜡块组织固定、透明度好,不需复染。在光镜下组织细胞层次分明,切面完整,能清楚地观察到高尔基体的多种形态,并可长久保存,不易褪色。

采用本方法制作高尔基体石蜡切片,具有操作简便、省时,且具有较好的重复性和稳定性。实验过程不需要特殊的仪器设备等优点,制作的切片对比明显,能充分地显示高尔基体复合体的多种形态。

(致谢:本实验得到重庆师范大学生命科学学院细胞生物学及遗传学教研室蔡志华副教授悉心指导,并受到重庆医科大学人体形态实验室周宇箭实验师的大力协助。)

关键词: 猫神经节;石蜡切片;高尔基体;银染

中图法分类号: R446 **文献标识码:** B

参考文献:

[1] 鲍时来. 高尔基体的结构与功能研究简介[J]. 生物学通报, 2006, 4(9): 10-11.

[2] 张泽林, 南晓光, 赵宗孝. 高尔基体的取材与染色及其制片[J]. 生物学杂志, 2002, 19(5): 42.

[3] 张 珩, 李积胜. 铀对人体影响的机制及防治[J]. 国外医学: 卫生学分册, 2004, 31(2): 80-84.

(编辑 栗 嘉)

基金项目: 重庆市自然科学基金(2007BB1227)
Supported by the Natural Science Foundation of Chongqing (2007BB1227)

作者简介: 柳建平,男,重庆市人,实验师,主要从事实验技术和教学方面的研究。E-mail: liujianping54@126.com

收稿日期: 2008-10-31;**修回日期:** 2008-11-12