维普资讯 http://www.cqvip.com

甘油法制作胚胎骨骼染色透明标本的体会

Experience in making of transparent specimens from embryonic skeleton by using glycerin staining method

洪 虹[1]，邹汝荣[1]，张本斯[1]，唐洗敏[2]（大理学院：1. 人体解剖学实验室；2. 临床医学本科2班，云南 大理 671000）

[关键词] 胚胎骨骼染色透明；甘油透明法；折光指数
[中图分类号] R322-34 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2007)03-0191-01

胚胎骨骼染色透明标本是在保持胚胎外形完整的情况下，利用化学或物理方法处理，使其折光指数与透明剂的相近[1]，以显示胚胎骨骼的特征。本文就胚胎骨骼染色透明标本制作方法进行研究，现报道如下。

1 材料与方法

采用捐赠的引产的新鲜胚胎标本，3～6个月龄。用甘油透明法。制作方法和步骤：①将新鲜胚胎流水冲洗清除表面污渍，边冲洗边轻轻挤压胚胎胸、腹腔，从口腔、肛门排除体内的液体和内容物，不去除内脏和脑组织以保证标本的完整。用95%酒精固定5～7 d，其间可更换酒精1次。②置于3%～5%重铬酸钾溶液净化5～7 d，其间更换2～3次新液。③置于95%酒精中脱水10～15 d，其间更换4～5次新液，每次换液时用干纱布吸干标本上液体，再放入新液中。在背部、臀部、下肢等肌肉较厚的部位可密集地刺孔，有利于酒精脱水。④各级酒精中脱水，每级脱水2～3 d。⑤依标本大小选用不同浓度的氢氧化钾溶液透明，胚胎长度7～10 cm浓度为4%，11～15 cm浓度为5%，16～20 cm浓度为7%。其间更换数次新液。⑥移入茜素红染液进行骨骼染色3～5 d，当骨化部分完全着色时，应立即取出，以免肌肉过染[2]。茜素红染液的配制：80%酒精加入茜素红，加等量的2%氢氧化钾溶液，染液量以淹没标本为宜。



图1 胚胎骨骼染色透明标本

⑦将标本移入铵甘油（20%甘油100 ml，加入氢氧化铵5 ml）中脱色数天，脱去肌肉浮色。⑧用各级甘油分别脱水透明数天。如肌肉较厚的部分出现雾絮状，表明前期的脱水不够充分，甘油不能充分进入体内进行置换。可以用注射器在这些部位注入甘油，增强透明效果。处理完毕置入纯甘油中保存（图1）。

2 讨论

制做胚胎骨骼染色透明标本有冬青油透明法、硫酸铜浸透法、苯与冬青油透明法等。常用透明剂的折光指数（Nd）和性能各不相同。二甲苯（Nd = 1.497）有易燃和具有毒性的特点，对人体的伤害大；冬青油（Nd = 1.534）是一种较理想的透明剂，但市场价格高，制作成本较大。甘油（Nd = 1.443）的市场价格较适中，对人体无伤害。胚胎的皮肤、肌肉折光指数平均在1.500～1.560的范围内，甘油的折光指数与之相接近。尽管甘油的折光指数小于其它透明剂，但只要在脱水、净化和初步透明等环节严格控制，仍可以制作出较满意的透明标本。本文选用甘油作为透明剂，制作的胚胎骨骼染色透明标本效果良好。

利凡诺引产效果高达98%左右，是中期妊娠常用的药物。使用利凡诺引产的胚胎，组织内出现青黑状态，净化时应提高重铬酸钾浓度并更换新液。氢氧化钾使组织在弱碱性液体的浸泡下软化、膨胀至半透明状态。碱液具有腐蚀作用，随意提高浓度会使标本受到破坏，碱液浓度要从低至高增加，在标本对碱液有耐受性后，才能逐渐提高浓度。甘油透明制作法可应用于鱼、鸟类和小型哺乳动物胚胎骨骼透明染色标本制作[3]，具有很好的应用前景。

[参考文献]

[1] 李忠华，王兴海. 解剖学技术[M]. 第2版. 北京：人民卫生出版社，1997. 187.
[2] 陈 彬，王跃招. 介绍一种透明骨骼标本染色法[J]. 生物学通报，2002，37(4)：57.
[3] 雷桂珍. 透明骨胳染色系列标本[J]. 教学仪器与实验，2001，17(11)：22－23.

（编辑：余汇洋）

[基金项目] 云南省教育厅科研基金项目(04Y191C)
[收稿日期] 2007-03-08 [修回日期] 2007-04-28