维普资讯 http://www.cqvip.com

296-297, 295

一种新的线粒体染色方法——腥红染色技术

组胚教研室 王正义

提 要 用腥红(又名苏丹4)作线粒体染色,可使线粒体呈现明晰的亮红色。组织再经亮绿复染后,则背景成为淡绿色。该方法简便,可靠,标本鲜艳,反差好。保存时间长达十年以上。

关键词 腥红;苏丹4;线粒体 染色技术
中图分类号 Q-33

腥红(Scarlet red)国际染料索引号(C.1.no.)为26105。在组织学及病理组织学技术书中都把它列为脂溶性染料,其用途是作脂肪染色[1,2,3,4]。未见用于线粒体染色的文献报告[5]。

目前用于线粒体染色的方法最常用的有苏木精法和苯胺酸性复红法[1-6],但这两者都存在缺点(将在后面讨论)。腥红用于线粒体染色经多年反复实践,证明它是一种理想的新方法。用该方法制做的教学切片已用于我校生物、组胚的教学工作中。

1 材料与方法

1.1 取材

任何富含线粒体的动物或昆虫组织,如小肠、肾或蝉鼓膜肌。

1.2 固定

在下述固定液中固定24h

10% 甲醛(中性)	10ml
氯化钙	1gm
重蒸水	90ml

1.3 切片

常规石蜡包埋,4μm 切片。

1.4 染色

1.4.1 切片脱蜡到水

1.4.2 在腥红染液中染色4-17h

腥红(水溶性)	1gm
磷钨酸	0.5gm
重蒸水	100ml

1.4.3 在70%、80%、95%酒精中各漂洗1-2s。

1.4.4 在0.5%亮绿的95%酒精中复染1min。

1.4.5 95%酒精,100%酒精各两次,每次1-2s。二甲苯透明,树胶封固。

2 结果

图1和图2清晰地显示了用该方法所得到的线粒体形态。图1为蝉鼓膜肌油镜下照片,线粒体(实为亮红色)呈串珠样平行排列,其间为肌原纤维(实为绿色)。图2为小白鼠小肠高倍镜下照片,该标本已放置十年,无明显退色,照片上仍可看清位于上皮细胞中线粒体的分布。

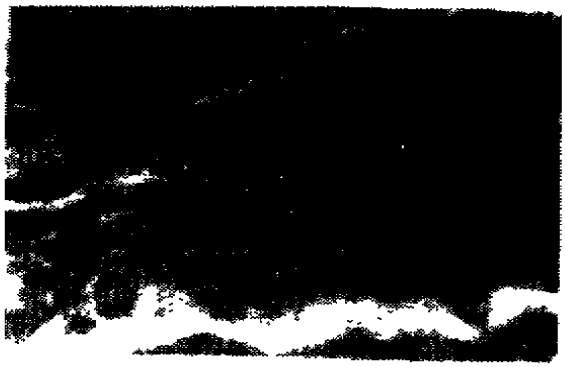


图1 蝉鼓膜肌腥红染色示线粒体

维普资讯 http://www.cqvip.com

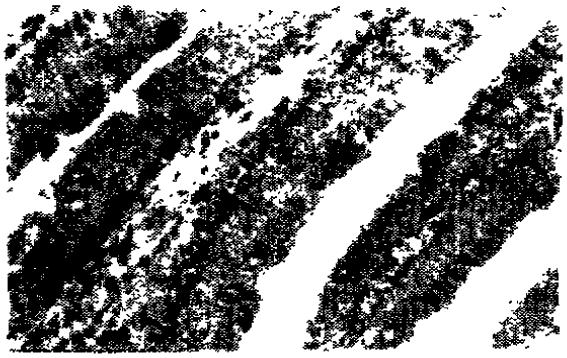


图 2　小肠腺红染色示线粒体

3　讨论

本方法与传统的苏木精法及酸性复红法比较：

3.1　本方法简便

3.1.1　固定时间短，仅一天。常用的铁苏木精法要求 Regaud 氏液固定 4 天，后又铬化 8 天，实际固定时间 12 天。固定后还需流水冲洗 1 天。

3.1.2　不须媒染　铁苏木精法及磷钨酸苏木精法都需 1－5 天的铁明矾或三氯化铁予处理。

3.1.3　不须漂白处理　铁苏木精法及磷钨酸苏木精法染色前都需对切片用高锰酸钾和草酸作漂白处理。

3.1.4　染色液配制简单　可现配现用，又可长期反复使用。本染液已放置十年，经多次使用，效果同样好。苏木精法配制的染液则需经 1－2 月以上的熟化方可使用，且不能长期反复使用。苯胺酸性复红染液也要静置一天后方可使用。

3.1.5　染色简便　可用染色架进行染色和分色，一次大量制作。但苯胺酸性复红法则不能用染色架处理，它需把染液滴在切片上并置于酒精灯上加热染色，手续麻烦，且不易掌握。

3.2　本法染色鲜艳　线粒体为亮红色，背景为绿色、对比清晰。而苏木精法只有苏木精单一染色。

3.3　本法不易退色　本方法染色标本放置十年以上未见明显退色。而苯胺酸性复红法一般都指出易于退色。苏木精法保存时间也不及腥红法久。

值得提示的是本方法所用腥红为水溶性，它有别于一般书中所介绍的腥红，它不溶于二甲苯，醇等。不知何故未见技术书中有关水溶性腥红的介绍。该染料制造厂家是 B·D·H。

初学本方法应掌握好分色这一步。第(3)步后可在镜下观察，以确定分色时间。若肉眼观察，在 95%酒精漂洗后，切片应呈红色，而不是深红色。在第(5)步后，切片应呈绿色，若为棕红色说明第(3)步漂洗不够。初学者经销事摸索，自当得经验。

参　考　文　献

1　Lillie, R. D, et al. Histopathologic technic and practical histochemistry. 4th ed. McGraw－Hill book commpany, New York. 1976; 146

2　Brown, G. G, et al. An introduction to his totechnology. Appletion－Century－Crofts. New York. 1978; 323

3　Drury, R. A. B, et al. Carleton's histological technique. 5th ed. Oxford university, Oxford. 1980; 290

4　Bancroft, J. D. et al. Theory and practice of histological technique. Churchill Livingstone. Edinburgh London and New York. 1977; 171

5　Excepta Medica, Section 1, 1957－1933

6　胡登辊，等. 组织学特殊染色技术实践。陕西师范大学出版社，1989; 33

7　芮菊生，等. 组织切片技术，高等教育出版社，1980; 113

（收稿日期　1995－02－22）

（下转第 295 页）

维普资讯 http://www.cqvip.com

在肺腺癌和肺鳞癌患者中，其染色体断裂显示了随机性，但在2例小细胞肺癌患者中 $3P_{14}$ 断裂较为常见，并见有染色体粉碎性断裂现象。

3 讨论

文献报道在小细胞肺癌细胞中以及在小细胞肺癌患者的骨髓细胞中 $3P_{14}$ 断裂较为常见[3]，在我们分析的2例小细胞癌患者外周血细胞中也存在较多的 $3P_{14}$ 断裂，而在其他肺腺癌和肺鳞癌患者外周血细胞中 $3P_{14}$ 断裂较为少见。这提示 $3P_{14}$ 断裂可能是小细胞肺癌的一种较为特异的获得性畸变，但这种异常是否可作为小细肺癌易感性或早期诊断的指标尚需要更多的资料给予证实。此外，我们还在小细胞肺癌患者外周血细胞中见到染色体粉碎性断裂现象，这在正常组织细胞中是比较罕见的，这一现象从一个侧面反映了肺癌患者细胞中染色体稳定性较差，易于受到内外环境因素的影响而发现断裂。而在细胞中染色体断裂的增多会使人体应有的遗传平衡遭到破坏，细胞遗传平衡的破坏可能在肿瘤的发生和发展中起着重要的作用[1,2]。

人体细胞中存在着癌基因，在正常情况下这些癌基因不表现出致癌性，但在某种因素（如基因突变、染色体易位或断裂等）存在下便会被激活而表现出致癌作用[4,5]。在小细胞肺癌细胞中 $3P^{[14]}$ 的断裂是否是癌基因被激活的根源所在尚待进一步研究。

参 考 文 献

1. Hogeste B. Mut Res 1984, 130: 63
2. Hecht F. Sutherland GR. Cancer Genet Cytogenet 1984; 12: 179
3. 孙艳阳，等．实用肿瘤学杂志，1988; 1: 17
4. Zhang Z. Cancer Genet Cytogenet 1986; 23: 211
5. Baladv K, et al. Cancer Genet Cytogenet: 1981; 51. 269

（收稿日期 1994－12－29）

A STNDY ON CHROMOSOMAL INSTABILITY IN LUNG CANCER

Wen Jianhu, et al

The First Hospital

Lymphocyte chromosomes of seventeen cases of lung cancer were analysed. The results showed that (1) Break frequency of chromosome in the lung cancer group, (2) Multiple breaks of chromosome in small cell carcinoma were observed.

KEY WORDS Chromosomal Break; Lung Cancer

（上接第 297 页）

A NEW MITOCHONDRIA STAINING MEATHOD ——SCARLET RED STAINING TECHNIQUE

Wang Zhenyi

Dept. of Histology and Embryology

Mitochondria turn bright red after being stained with scarlet red (ie Sudan 4) Stain the tissue again with light green, the background turns green. This method is simple and reliable. In bright color and with good contrast, the specimen can last more than ten years.

KEY WORDS Scarlet red; Sudan4; Mitochondri